

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ ALAN YENİDOĞANLARDA
PROBİYOTİK DESTEĞİNİN İDRAR D-LAKTİK ASİT
DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELEMESİ**

Dr. Yağmur TABUR

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2020

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

ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ ALAN YENİDOĞANLARDA
PROBİYOTİK DESTEĞİNİN İDRAR D-LAKTİK ASİT
DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELEMESİ

Dr. Yağmur TABUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat YURDAKÖK

ANKARA
2020

TEŞEKKÜR

Değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, birlikte çalışmaktan onur duyduğum sevgili danışman hocam Prof. Dr. Murat Yurdakök'e,

İyi bir çocuk hekimi olma yolunda ve tez yazımı aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Şule Yiğit ve Doç. Dr. Hasan Tolga Çelik'e,

Tezimin en önemli aşaması olan laboratuvar kısmında çok değerli katkı ve yardımlarını benden esirgemeyen Prof. Dr. Samiye Yabanoğlu Çiftçi ve Dr. Öğr. Üyesi İpek Baysal'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca çok değerli katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine,

Birlikte çalıştığım sevgili asistan arkadaşlarıma, başta Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi ekibi olmak üzere tüm hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Beni bugünlere getiren ve yetiştiren, her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Hayatımdaki tüm mihenk noktalarında elimden tutan, sabır ve şefkatle her zaman yanımda olan, en büyük destekçim kıymetli eşim Fatih Mehmet Tabur'a

Minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yağmur TABUR

Ankara, 2020

ÖZET

Tabur Y. Antibiyotik tedavisi alan yenidoğanlarda probiyotik desteğinin idrar D-laktik asit düzeyi üzerine etkisinin incelemesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Neonatoloji Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Ankara 2020.

D-Laktik asit, normal şartlar altında insanda majör rolü olmayan laktat izomeridir. İnsanda D-laktik asitin en önemli kaynağı bağırsaktaki mikrobiyal üretilimdir. Normal şartlar altında sağlıklı bireylerde klinik bir önemi yokken, çeşitli nedenlerle artmış gastrointestinal mikrobiyal üretim sonucu kan, idrar ve dışkıda tespit edilebilir. Yenidoğan bağırsak florası oldukça hassastır ve konağın kısa veya uzun vadeli sağlığını önemli ölçüde etkileyebilecek dış etkilere son derece duyarlıdır. Erken bağırsak disbiyozisi ile çeşitli kronik hastalıkların gelişme riskinin ilişkili olması nedeniyle disbiyozisin tespit edilmesi ve probiyotik takviyesi ile disbiyozun düzeltilmesi neonatolojide umut verici bir araştırma alanıdır.

Çalışmanın amacı geç prematüre ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerde idrarda normal D-laktat düzeylerini belirlemek, antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisini indirekt olarak idrarda D-laktat ölçümü ile göstermek ve probiyotik desteğinin flora üzerine düzeltici etkisini yine idrar D-laktat düzeylerini karşılaştırarak araştırmaktır. Çalışmaya kontrol grubunda sağlıklı geç prematüre ve zamanında doğan 40 bebek, çalışma grubunda yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi başlanan 39 bebek dahil edildi. Çalışma grubundaki bebeklerden antibiyotik tedavisi başlanmadan önce, tedavi bitiminde ve tedavi bitiminden 4 hafta sonra idrar örnekleri alındı. Çalışma grubu içinde probiyotik alan ve almayan bebekler alt grup olarak incelendi. İdrar örneklerindeki D-laktik asit düzey tayini, İnsan D-laktik asit Elisa kiti (BT Lab) yönergesi takip edilerek gerçekleştirildi.

Çalışmamızda geç prematüre ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerin yaşamın ilk 48-72 saatindeki ortalama idrar D-laktat düzeyleri $20,57 \pm 3,67 \mu\text{mol/L}$, ve ortanca idrar D-laktat atılım düzeyleri 3,15 mmol/mol kreatinin (minimum ve maksimum değerleri sırasıyla 1,23-14,11 mmol/mol kreatinin) olarak ölçüldü. Antibiyotik tedavisi alan bebeklerin tedavi sonrası idrar D-laktat atılım düzeyleri (ortanca: 20,27 mmol/mol kreatinin), tedavi öncesine (ortanca: 13,12 mmol/mol kreatinin) göre belirgin olarak daha yüksekti ($p=0,047$). Antibiyotik tedavisi sonrası probiyotik desteği alan bebeklerin 4. hafta idrar D-laktat atılım düzeylerinde (ortanca: 27,2 mmol/mol kreatinin), probiyotik almayan bebeklere göre (ortanca: 27,01 mmol/mol kreatinin) istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Çalışmamız antibiyotik tedavisi nedeniyle gelişen bağırsak disbiyozisinin indirekt göstergesi olarak idrar D-laktat atılım düzeylerinin kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışma bildiğimiz kadarı ile antibiyotik ilişkili disbiyozisi ve probiyotik desteğinin flora üzerine düzeltici etkisini indirekt olarak bağırsak florasının ürünü olan idrar D-laktat atılım düzeyleri ile değerlendiren, sağlıklı geç preterm-term bebeklerde normal referans değerlerini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamız ve bu konuda yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici olacaktır.

Anahtar kelimeler: Yenidoğan, D-laktik asit, antibiyotik, probiyotik

ABSTRACT

Tabur Y. Investigation of the effect of probiotic supplementation on urinary D-lactic acid level in newborns receiving antibiotic treatment. Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases, Neonatology Department. Thesis. Ankara 2020.

D-Lactic acid is a lactate isomer that normally does not have a major role in humans. The most important source of D-lactic acid in humans is microbial production in the gut. While it has no clinical significance in healthy individuals under normal conditions, it can be detected in blood, urine and feces as a result of increased gastrointestinal microbial production for various reasons. Neonatal intestinal flora is highly sensitive and extremely sensitive to external influences that can significantly affect the short or long term health of the host. Detection of dysbiosis and correction of dysbiosis with probiotic supplementation is a promising area of research in neonatology, as early intestinal dysbiosis is associated with the risk of developing various chronic diseases.

The aim of the study is to determine normal D-lactate levels in urine in healthy babies born in late preterm and term, to show the negative effect of antibiotic treatment on the intestinal flora indirectly by measuring D-lactate in the urine, and to investigate the corrective effect of probiotic supplementation on flora by comparing urine D-lactate levels. Forty healthy late premature and term babies in the control group and 39 babies who were given antibiotic treatment during the newborn period were included in the study. Urine samples were taken from the babies in the study group before the antibiotic treatment was started, at the end of the treatment and 4 weeks after the end of the treatment. In the study group, babies who took probiotics and those who did not were examined as a subgroup. D-lactic acid level determination in urine samples was performed following the instructions of the Human D-lactic acid Elisa kit (BT Lab).

In our study, the mean urinary D-lactate levels in the first 48-72 hours of life in healthy babies born late premature and term were $20.57 \pm 3.67 \mu\text{mol} / \text{L}$ and the median urinary D-lactate excretion levels were $3.15 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$ (minimum and maximum values were measured as $1.23\text{-}14.11 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$, respectively). Post-treatment urinary D-lactate excretion levels (median: $20.27 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$) were significantly higher in babies who received antibiotic treatment compared to pre-treatment (median: $13.12 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$) ($p = 0.047$). There was no statistically significant difference in the 4th week urinary D-lactate excretion levels (median: $27.2 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$) of babies who received probiotic support after antibiotic treatment compared to babies who did not receive probiotics (median: $27.01 \text{ mmol} / \text{mol creatinine}$) ($p > 0.05$).

Our study shows that urinary D-lactate excretion levels can be used as an indirect indicator of intestinal dysbiosis due to antibiotic treatment. As far as we know, this study is the first study evaluating antibiotic-associated dysbiosis and the corrective effect of probiotic supplementation on flora with urine D-lactate excretion levels, which is the product of intestinal flora, and investigating normal reference values in healthy late preterm-term babies. Our study will guide other studies on this subject.

Keywords: Newborn, D-lactic acid, antibiotic, probiotic

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇLAR	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Laktik Asit ve Tarihçesi.....	3
2.2. Laktik Asitin Yapısı ve Kimyasal Özellikleri.....	3
2.3. Laktik Asit Metabolizması.....	5
2.4. D- Laktik Asit	6
2.4.1. Endojen Üretim	6
2.4.2. Ekzojen Alım ya da Gastrointestinal Üretim.....	8
2.4.3. D-Laktik Asit Metabolizması	9
2.5. D- Laktik Asidoz.....	12
2.5.1. Patofizyoloji	12
2.5.2. Klinik Bulgular	17
2.5.2.1. Nörolojik Bulguların Mekanizması	17
2.5.3. Tanı.....	19
2.5.4. Tedavi	20
2.6. Bağırsak Florası (Mikrobiyota).....	22

2.6.1.	Flora Gelişimi Etkileyen Faktörler	24
2.6.1.1.	Doğum Şekli	25
2.6.1.2.	Beslenme Şekli	28
2.6.1.3.	Antibiyotik Kullanımı.....	29
2.6.2.	Disbiyozis	32
2.7.	Probiyotikler	34
2.7.1.	Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihcesi.....	34
2.7.2.	Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	35
2.7.3.	Probiyotiklerde Aranılan Özellikler.....	37
2.7.4.	Probiyotiklerin etki mekanizmaları	37
2.7.5.	Probiyotiklerin Kullanım Alanları.....	39
2.7.6.	Yenidoğanlarda Probiyotik Kullanımı.....	41
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	44
3.1.	İstatistiksel Analiz Yöntemi.....	46
4.	BULGULAR	47
5.	TARTIŞMA.....	62
6.	SONUÇLAR	70
7.	KAYNAKLAR.....	73
8.	EKLER	100
	EK.1. Çalışma vaka kayıt formu	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD:	: Amerika Birleşik Devletleri
AGA	: Gestasyon haftasına göre uygun doğum ağırlıklı bebekler (Appropriate for gestational age)
AP-1	: Aktivatör Protein-1
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BPD	: Bronkopulmoner Displazi
¹⁴C	: Karbon-14
CFU	: Koloni Oluşturan Ünite (Colony forming unit)
cm³	: Santimetreküp
CO₂	: Karbondioksit
CPAP	: Devamlı ekspiryum sonu pozitif basınç (Continuous Positive Airway Pressure)
C/S	: Sezaryen Doğum
D-2-HDH	: D-2-hidroksi Asit Dehidrojenaz
Dk	: Dakika
dL	: Desilitre
DLA	: D- Laktik Asidoz
D-LDH	: D- Laktat Dehidrogenaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal Growth Factor
ELBW	: İleri Derecede Düşük Doğum Ağırlığı (extremely low birth weight)
EMR	: Erken Membran Rüptürü
FDA	: Amerikan Besin ve İlaç Komitesi (Food and Drug Administration)
g	: Gram
GRAS	: Genellikle güvenli olarak tanınan (generally regarded as safe)
H₂O	: Su
IFN-γ	: İnterferon-gamma
IgA	: İmmünoglobulin A
IL-10	: İnterlökin-10
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
IVK	: İntraventriküler Kanama

İBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
İBS	: İrritabl Bağırsak Sendromu
İPA	: İntrapartum Antibiyotik Profilaksisi
İUBG	: İntrauterin Büyüme Geriliği
L	: Litre
LA	: Laktik Asit
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LGA	: Gestasyon haftasına göre ağırlığı büyük bebekler (Large for gestational age)
LGG	: Lactobacillus rhamnosus GG
L-LDH	: L- Laktat Dehidrogenaz
MAMP	: Mikrop İlişkili Moleküler Yapılar
MCT	: Monokarboksilat Taşıyıcı
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
NF-kB	: Nükleer Faktör-kappa B
NK	: Natural Killer
nmol /L	: nanomol/ litre
NSVY	: Normal Spontan Vajinal Yolla Doğum
Örn	: Örneğin
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDH	: Piruvat Dehidrogenaz
PGE2	: Prostaglandin E2
pH	: Power of Hydrogen
pKa	: Asit çözünme sabitinin logaritmik ölçüsü
PPAR-γ	: Peroksizomal Proliferatörle Aktive Reseptör-γ
PRR	: Desen Tanıma Reseptörü
RDS	: Respiratuvar distres sendromu
ROP	: Prematürite Retinopatisi

Rpm	: Revolution Per Minute (Dakikada Devir)
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SCFA	: Kısa Zincirli Yağ Asiti
SGA	: Gestasyon haftasına göre ağırlığı küçük bebekler (Small for gestational age)
SS	: Standart sapma
TGF-β	: Transforming Growth Factor beta
Th-1	: T yardımcı hücre-1
Th-2	: T yardımcı hücre-2
Th-17	: T yardımcı hücre-17
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TPN	: Total Parenteral Nutrisyon
Treg	: T regülatör hücre
V	: Hız
Vmax	: Maksimum Hız
μmol	: Mikromol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Laktat enantiyomerleri.....	4
Şekil 2.2: Metilgliksalaz yolu	7
Şekil 2.3: D- ve L-laktat metabolizması	11
Şekil 4.1: Çalışmaya katılan bebeklerin akış şeması	48

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: D-laktat birikimine katkıda bulunan olası faktörler	16
Tablo 2.2: Probiyotik olarak sık kullanılan mikroorganizmalar.....	36
Tablo 2.3: Kanıta Dayalı Tıp Uygulamalarında Probiyotikler	41
Tablo 4.1: Annelerin demografik ve klinik özellikleri	49
Tablo 4.2: Bebeklerin demografik ve klinik özellikleri.....	51
Tablo 4.3: Çalışma Grubundaki Bebeklerin Neonatal Tanıları	52
Tablo 4.4: Çalışma grubunun beslenme şekillerine göre dağılımları	53
Tablo 4.5: Çalışma grubundaki bebeklere uygulanan antibiyotik rejimlerinin dağılımı....	54
Tablo 4.6: Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik kullanım süresi.....	54
Tablo 4.7: Çalışma grubundaki bebeklere uygulanan probiyotik, entübasyon, CPAP, serbest oksijen desteği ve kültür pozitifliği.	55
Tablo 4.8: Antibiyotik tedavisi öncesi çalışma grubu ile kontrol grubunun idrar D-laktat, idrar kreatinin ve idrar D-laktat/kreatinin düzeylerinin karşılaştırması	56
Tablo 4.9: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar D-laktat düzeyleri	57
Tablo 4.10: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar kreatinin düzeyleri.....	58
Tablo 4.11: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar D-laktat/kreatinin oranları	59
Tablo 4.12: Çalışma grubunda probiyotik desteği alan ve almayan bebeklerin antibiyotik tedavisi öncesi- tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. hafta D-laktat, idrar kreatinin ve D-laktat/kreatinin düzeylerinin karşılaştırması.....	61

1. GİRİŞ VE AMAÇLAR

D-Laktik asit, normal şartlar altında insanda majör rolü olmayan laktat izomeridir. İnsan dahil memeliler D-laktat dehidrojenaza (D-LDH) sahip değildir ve bu nedenle insanda D-laktik asit üretimi oldukça sınırlıdır (1). İnsanda bilinen tek endojen D-laktik asit sentezi metilglioksalaz yolu ile gerçekleştirilir (2, 3). Bu kısıtlı üretim nedeniyle insanda D-laktik asit kaynağı bağırsaktaki bakteriyel fermantasyondur. Normal şartlar altında, dokudaki metabolizma veya bağırsaktaki bakteriyel fermantasyon yoluyla üretilen D-laktat; kan, idrar veya dışkıda klinik olarak önemli miktarda laktat yükselmesine neden olmaz (4). Çeşitli nedenlerle artmış gastrointestinal mikrobiyal üretim sonucu D-laktat milimolar konsantrasyonlarda ölçülebilir (5, 6).

Bağırsak Florası (mikrobiyata), bağırsakta birlikte yaşayan bakteri, virüs, mantarlar dahil olmak üzere tüm mikroorganizmalara verilen genel isimdir (7). Gastrointestinal mikrobiyotaya, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu için bir bariyer sağlayarak, önemli metabolik fonksiyonlar (sindirilemez liflerin fermantasyonu, kısa zincirli yağ asitlerini kullanarak enerji tasarrufu ve K vitamini üretimi gibi) sağlayarak ve bağışıklık sisteminin gelişimini destekleyerek insan sağlığında önemli bir rol oynar (8). Yenidoğan mikrobiyotası, sağlıklı term bebeklerde ve özellikle dinamik doğası göz önüne alındığında prematüre bebeklerde oldukça hassastır ve kolayca etkilenebilir. Bu nedenle yenidoğan mikrobiyotası kısa ve uzun vadeli sağlığı önemli ölçüde etkileyebilecek dış etkilere son derece duyarlıdır (9).

Antibiyotikler, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde bebeklere en sık uygulanan tedavilerdendir (10). Bağırsak florasını olumsuz etkileyecek yoğun antibiyotik kullanımları özellikle prematüre bebekler olmak üzere yenidoğanlarda sıktır. Antibiyotik kullanımının yenidoğanlarda kritik faydalı etkisinin yanında istenmeyen ve bazen olumsuz sonuçları olabilir. Antibiyotik maruziyeti, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini azaltabilir, faydalı bakterilerin kolonizasyonunu geciktirebilir ve oluşan disbiyotik ortam bebekleri nekrotizan enterokolite (NEK) daha yatkın hale getirebilir (11). Yapılan araştırmalar kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) kültürlerinde üreme olmadığı halde ilk günden itibaren antibiyotik kullanılan prematüre bebeklerde NEK ve mortalitenin ciddi şekilde arttığını ortaya koymuştur (12).

Yenidoğanlarda profilaktik enteral probiyotik kullanımının, mukozada bakteriyal migrasyonu önleyerek, patojenik bakterilerle yarışmaya girip sayılarını azaltarak, mikrobiyal dengeyi sağlayarak ve intestinal immüniteyi artırarak enfeksiyon ve NEK ile ilişkili morbiditenin düzenlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (13). Yenidoğanlarda probiyotik kullanımın yararlı etkilerine dair en güçlü kanıtlar, normal bağırsak florası kazanımını sağlayarak özellikle NEK gibi disbiyotik durumlara karşı gösterilmiştir. Bu konuyla ilgili yapılan birkaç klinik çalışma ve meta-analiz, NEK'i önlemek için probiyotik kullanımının genel olarak güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir (14).

Literatürde D-laktik asit ile ilgili yenidoğanlarda yapılmış çalışmalara bakıldığında; NEK'li bebeklerde artmış enterik bakteriyel aktivite sonucu idrar D-laktat atılımının artmış olduğu gösterilmiştir (15). Bir diğer çalışmada ise NEK'li prematüre bebeklerde plazma D-laktat düzeyi yüksek bulunmuş ve D-laktatın NEK tanısı için erken bir biyobelirteç görevi görebileceği ifade edilmiştir (16). Chen ve arkadaşları (17) ise çalışmalarında plazma D-laktat düzeylerinin NEK'te prognostik bir faktör olduğunu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir

Literatürde sadece yenidoğanlarda yapılmış, idrarda normal D-laktat düzeylerini gösteren referans çalışması bulunmamaktadır. Yaptığımız literatür taramasında, yenidoğanlarda antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisini idrar D-laktat düzeyleri ile değerlendiren herhangi bir araştırmaya rastlamadık. Çalışmamız bildiğimiz kadarı ile antibiyotik ilişkili disbiyozisi ve probiyotik desteğinin dizbiyozisi düzeltici etkisini indirekt olarak bağırsak florasının ürünü olan D-laktat düzeyleri ile değerlendiren ilk çalışmadır.

Çalışmamız sonucunda geç premature (gebeliğin 34. haftasından sonra doğan bebekler) ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerde idrarda normal D-laktat düzeylerini belirlemeyi, antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisini indirekt olarak idrarda D-laktat ölçümü ile göstermeyi ve probiyotik desteğinin flora üzerine düzeltici etkisini yine idrar D-laktat düzeylerini karşılaştırarak araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Laktik Asit ve Tarihçesi

Laktik asit (LA) kimyasal olarak alfa hidroksi asit veya 2- hidroksipropiyonik asit olarak adlandırılan bir organik asittir. İlk kez 1780 yılında İsviçre’li kimyacı Carl Wilhem Scheele tarafından ekşimiş sütün kalsiyum tuzu ile çökeltilmesiyle kahverengi bir şurup olarak izole edildi ve sütün normal bir bileşeni olduğu varsayılarak “mjölksyra” (milk acid) olarak adlandırıldı (18).

Daha sonra 1813'te Nancy Üniversitesi'nde Fransız Henri Braconnot, fermente gıdaların asidik bileşenleri üzerine çalışarak “nanceic acid” adını verdiği bir ürün buldu. 1817'de Alman bir kimyager olan Vogel, nanseik asit ve laktik asidin aynı ürün olduğunu gösterdi. 1857'de Louis Pasteur pancar suyu fermantasyonu ile yapılan damıtma deneyleri sırasında ilk kez, alkol fermantasyonunda önemli bir bileşen olan laktik asit (laktik fermantasyon) kaynağı olarak kullanılan “laktik maya”yı tanımladı (19).

Laktik asit 1881 yılından itibaren ise süttten fermantasyon yoluyla üretilerek endüstriyel hayatta kullanılmaya başlanmıştır, bu nedenle bazı kaynaklarda “süt asidi” şeklinde de geçmektedir (20).

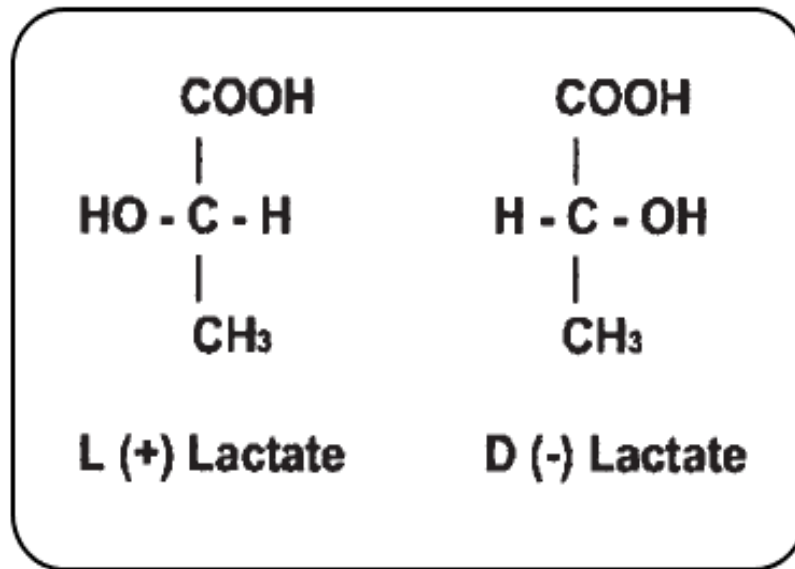
2.2. Laktik Asitin Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

En basit hidroksikarboksilik asit olan laktik asitin formülü $\text{CH}_3\text{CHOH-COOH}$ ve kimyasal adı 2-hidroksipropanoik asittir (21). Molekülünde $-\text{COOH}$, $-\text{H}$, $-\text{OH}$ ve $-\text{CH}_3$ olmak üzere 4 değişik grup taşıyan bir karbon atomu vardır. Asimetrik C2 atomu nedeniyle (α hidroksi radikalı) doğada L(+) ve D(-) formları olarak iki enantiyomer (optik izomer veya stereozomer) halinde bulunur (**Şekil 2.1**). Tipik olarak ışığı saat yönünde döndüren enantiyomere “dekstrorotatori” (D) ve saat yönünün tersine döndürene “levorotatori” (L) denir. Artı ve eksi işaretler, molekülün polarize ışıktaki dönme yönünü temsil etmekle beraber, artı işaret sağ yönü (D), eksi işaret ise sol yönü (L) göstermektedir. Laktik asit bu kurala istisnadır, stereozomerlerinin uzaydaki görünüşleri L ve D sembolleriyle ifade edilmesi iki gliseraldehit izomeriyle bağlantılıdır. Bu nedenle optik izomerleri L(+) ve D(-) şeklinde ifade edilir. İnsan vücudundaki baskın izomer ise L(+) formudur (19).

Her iki enantiyomer de benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Renksiz, kokusuzdur ve 25°C’de 3.86 pKa değerine sahiptir; suda çözünebilir (22, 23). Suda çözüldüğünde laktat ve H⁺ iyonlarını verir, bu reaksiyon tersinirdir. Fizyolojik pH’da hem D- hem de L-LA 3000:1 (laktat iyonu: laktik asit) oranında serbestçe iyonlarına ayrılır (24).

Her iki optik izomer saf susuz formda 52.7-52.8 °C, her izomerden %50 oranında içeren rasemik karışımda ise 16.4°C erime noktasına sahip beyaz ve kristalimsi katı halde bulunmaktadır. Saf formun elde edilmesi oldukça zordur ve endüstriyel amaçlar için LA yoğunlaştırılmış sulu solüsyonlar kullanılarak işlenir (19).

LA gıda maddelerinde asit düzenleyici, aroma arttırıcı ve antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Diğer organik asitlerden farklı olarak çok hafif bir ekşi tada sahiptir. Uçucu olmaması ve kokusuz olması nedeniyle ABD’de FDA tarafından ‘‘GRAS’’ (generally regarded as safe) maddesi olarak kabul edilmektedir (25).



Şekil 2.1: Laktat enantiyomerleri (24)

2.3. Laktik Asit Metabolizması

LA hemen hemen tüm yaşam formlarında bulunan bir madde olup anaerobik hücre metabolizmasının normal bir ürünüdür. Kan LA düzeyi, LA üretimi ve dokulara alımı arasındaki dengeyi yansıtır. Normal serum laktat konsantrasyonu yaklaşık 1-2 mmol/L olup üretimi doku hipoksisi, travma, ilaç ve toksinler, metabolik hastalıklar, hipertermi ve nöbet gibi oksijen gereksiniminin değiştiği durumlarda artmaktadır (26). Başta kas dokusu olmak üzere birçok hücre ve doku tarafından ortamda yeterli oksijen olmadığı zamanlarda büyük oranda üretilmektedir. Normal şartlarda vücuttan hızlı bir şekilde özellikle karaciğer ve bir miktar da böbrekler yardımı ile temizlenmektedir (27).

LA, anaerobik koşullarda oksidatif reaksiyonda kullanılmayan pirüvattan, laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi sayesinde NADH aracılığıyla üretilir. Karbonhidrat ve esansiyel olmayan amino asit metabolizmasındaki en önemli ara maddelerden biridir. LA bir hücre için atık ürün anlamına gelirken başka bir hücre için faydalı bir substrat olarak kullanılabilir, bu nedenle ara metabolizmada en yüksek geri dönüşüm oranlarından birine sahiptir (28).

Vücuttaki her organ LA üretebilir. Normal dinlenme durumlarında beyin, kalp kası, iskelet kası, eritrositler ve deride glikoliz oranı en yüksek düzeydedir (29). Eritrosit ve renal medulla hücrelerinde mitokondri olmadığı için pirüvat oksidasyonu gerçekleşmez ve laktata yıkılmak zorunda kalır. Yoğun egzersiz sırasında ise iskelet kasları laktat seviyesinin yükselmesine en çok katkıda bulunur.

Üretilen LA kas, karaciğer ve böbreğe gelerek kasta krebs siklusu ile CO₂ ve H₂O'ya; karaciğer ve böbrekte ise Cori siklusu ile glikoza çevrilmektedir (30). Karaciğer (% 60) ve böbrekler (% 30) laktat atılımında rol oynayan ana organlardır (30, 31). Normal koşullarda karaciğer 15-20 mmol/L kadar laktik asiti metabolize ederek plazma düzeyinin 1 mmol/L altında kalmasını sağlamaktadır. Laktat atılımı için renal eşik 6-10 mmol/L'dir, bu nedenle renal atılım şiddetli hiperlaktatemi önemlidir (32).

George Brooks, 1985 yılında laktat mekiğini tanımlamıştır (33). İskelet kası, laktat mekiğinin ana bileşenidir; laktik asitin hem üretiminde hem alımında hem de kullanımında rol oynar. İskelet kası, istirahatte veya hareket halinde laktik asidi hem üretir hem de

metabolik süreçlerde kullanır (34). İskelet kası tarafından alınan LA, tip I fibriller tarafından oksidatif reaksiyona uğramakta (35) veya tip II fibriller tarafından glikoneogenez ile glikoza dönüştürülmektedir (36). LA, enerji gereksiniminin yüksek olduğu oksidatif metabolik faaliyetlerin gerçekleştiği dokular (kalp ve iskelet kası tip I fibriller gibi) için iyi bir enerji kaynağıdır. Kalp kası hipoksi durumunda LA üretirken, normal koşullarda ise önemli LA oksitleyici doku niteliğindedir (37).

Genel olarak değerlendirildiğinde laktat metabolizması düşünülen çok daha dinamik bir süreçtir. LA metabolik bir sürecin sadece son ürünü değil, oksidatif solunumun ya da glikoneogenezin bir ara ürünü olarak kabul görmektedir (38).

2.4. D- Laktik Asit

LA, izomer spesifik enzimlerin (L-laktat dehidrojenaz ve D-laktat dehidrojenaz) etkisiyle sentezlenir. L-LDH ile D-LDH arasındaki evrimsel ilişki tam olarak bilinmemekle birlikte, L-LDH ve D-LDH'nin farklı evrimsel atalara ait olduğu düşünülmektedir. Amino asit sekanslarının tipik farklılıklarına göre L ve D-2-hidroksiasit dehidrojenaz olarak iki ayrı enzim ailesi içinde sınıflandırılmaktadır (39).

İnsan dahil memeliler D-LDH'a sahip değildir ve insan dokusunda D-laktik asit üretimi oldukça sınırlıdır. Bu kısıtlı üretim nedeniyle sağlıklı insanlarda kan D-laktik asit seviyesi o kadar düşüktür ki, L-laktat insan vücudundaki laktatın majör fizyolojik enantiyomeridir.(1).

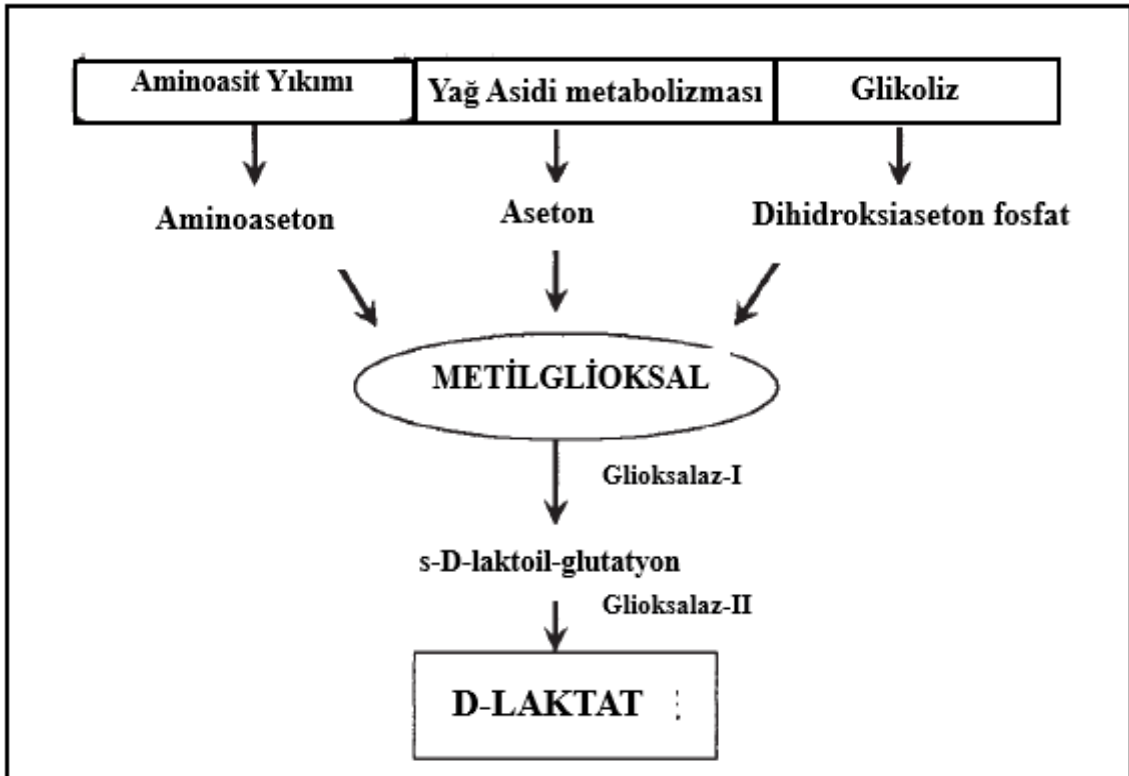
2.4.1. Endojen Üretim

D-laktat dehidrojenaz enzimi sadece alt organizmalarda izole edilmişti. Son zamanlarda bazı araştırmacılar insan ve fare kas dokusuna ait olduğu varsayılan mitokondriyal D-laktat dehidrojenazı tanımladılar ancak tanımlanan bu enzimin memeli vücudundaki D-laktat metabolizması üzerindeki etkisi henüz iyi anlaşılmamıştır (40).

İnsanda bilinen tek endojen D-laktik asit sentezi metilglioksalaz yolu ile gerçekleştirilir (2). Metilglioksal az miktarda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasından üretilir. Reaktif ve toksik yapısı nedeniyle vücuttan atılması gerekir, bu yol ile dönüşümü sağlanır (41).

Metilglioksalaz yolu, iki farklı enzim içerir. Bunlardan ilki olan glioksalaz-I, indirgenmiş glutatyon ile metilglioksalden enzimatik olmayan bir şekilde oluşturulan hemithioasetalden S-laktoil-glutatyonun sentezini tersinmez bir şekilde katalizler. Diğer enzim olan glioksalaz-II, bu bileşiği D-laktik asit ve indirgenmiş glutatyona hidrolizler. Sonuç olarak bu yolakta metilglioksal, glioksalaz-I ve glioksalaz-II enzimleri tarafından D-laktata dönüşmüş olur (**Şekil 2.2**). Bu reaksiyon hücre ve organellerin sitozolünde özellikle mitokondride meydana gelen, biyolojik yaşamda her yerde bulunan bir reaksiyondur (3).

Metilglioksal yolak çalışmalarında bildirilen serum D-laktat değerleri tipik olarak mikro veya nanomolar düzeyde olup genellikle asidemiye katkıda bulunmazlar. Bununla birlikte kedilerde yüksek dozda (8 g/kg) ve uzun süreli (22 gün) propilen glikol alımından sonra serum D-laktat konsantrasyonlarının 7 mmol/L'ye ulaştığı, metilglioksal metabolizması sonucu D-laktik asidoza neden olabileceği gösterilmiştir (42).



Şekil 2.2: Metilglioksalaz yolu (24)

2.4.2. Ekzojen Alım ya da Gastrointestinal Üretim

İnsanda D-laktik asitin esas kaynağı, gastrointestinal sistemdeki (kolon) bakteriyel fermantasyon veya ekzojen bir kaynaktır (43). İnsan gastrointestinal kanalında bulunan bakteri florası, mevcut L-LDH ve D-LDH miktarına bağlı olarak L ve/veya D-laktat üretme kabiliyetine sahiptir. Bazı bakteri türleri, bir izomeri diğerine dönüştürmek için DL-laktat rasemaz enzimine sahiptir. Dolayısıyla, rasemizasyon reaksiyonları kolonda mevcut olan D-laktat izomerlerinin miktarını daha da artırabilir (44).

D-laktik asit gastrointestinal kanalda esas olarak laktobasiller ve bifidobakteriler tarafından üretilir. D-laktatemik vakaların dışkı kültürlerinde laktobasillus türleri (*Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus fermentum* $> 10^{12}$ cfu/g dışkı) gibi gram pozitif anaerobların belirgin bir baskınlığı gösterilmiştir (45, 46). *Lactobacillus* türlerinden bazılarının (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus buchnori*, *Lactobacillus fermenti* I Va, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus salivarius*) in vitro D-laktik asit ürettiği bilinmektedir (47-49). Laktobasiller sadece D-laktat dehidrojenaza değil, aynı zamanda DL-laktat rasemaza da sahiptir (44). Diğer potansiyel D-laktik asit üreticileri *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Streptococcus bovis* ve *Bacteroides ruminicola*'dır (50)

Ekzojen kaynak yoğurt, lahana turşusu, bira, şarap gibi fermente gıdaların diyetle alımıdır (5, 51). Bu tür fermante sebze ve meyveler 2-15 mmol / L arasında değişen L- ve D-laktik asit içerir (52, 53).

Propilen glikol bazı ilaçlarda, kozmetik ürünlerinde ve gıda ürünlerinde fazla olan suyu emmek ve nemi korumak için yaygın olarak kullanılan bir dihidroksi alkoldür. Bununla birlikte, ağızdan alındığında zayıf bir şekilde emilir ve toksisite için düşük potansiyele sahip olduğu düşünülür (1). Propilen glikol hem kolondaki bakteriyel fermentasyon yoluyla hem de dokudaki metilglioksal yolak yoluyla D-laktata metabolize edilebilir (54).

D-laktat ayrıca, L ve D-laktatın rasemik karışımlarını içeren periton diyalizat çözeltileri ve ringer laktat çözeltileri formunda da kana girebilir (5, 55). Ancak normal şartlar altında, gerek dokudaki metabolizma veya bağırsaktaki bakteriyel fermantasyon yoluyla üretilen gerekse ekzojen yolla alınan D-laktat, insan kanında veya dışkısında klinik olarak önemli miktarda laktat yükselmesine neden olmaz (1).

2.4.3. D-Laktik Asit Metabolizması

Sağlıklı yetişkinlerde serum D-laktat konsantrasyonu 11-70 nmol /L arasında değişir (53, 56, 57). İdrar atılımı 0.1 μ mol / saat'tir (58). D-laktat atılımı yaşamın ilk ayında en yüksektir ve dört yaşına kadar azalır (59).

D-laktat anaplerotiktir, çünkü D-laktatın mitokondriyal membrana taşınması oksaloasetat ve malatın sitozole yer değiştirmesine neden olur. D-laktatın sitozolden mitokondriyal matrise taşınması, iç mitokondriyal membranın iç yüzünde bulunan D-LDH tarafından oksitlenmesine izin verir. Mitokondriyal membran boyunca D-laktat mekiği olan üç taşıyıcı tanımlanmıştır, bunlar: D-laktat/H⁺ simporter, D-laktat/oksoasit antiporter ve D-laktat/malat antiporter'dır (60).

D-laktat, proton bağımlı monokarboksilat taşıyıcıları (MCT-1 ila MCT-8) tarafından çeşitli dokulara taşınır (61). MCT'ler çoğu dokuda eksprese edilir. Retina, kas, böbrek, beyin kapiller endotel hücreleri, kardiyak miyositler, enterosit, hepatosit, eritrosit, timosit, plasenta ve sinir dokusunda tanımlanmıştır (40,41). D-laktat ince bağırsak ve kolonik epitelyal hücrelerden MCT-1 aracılığıyla absorbe edilir. Bu aracılı emilim L-laktat için iki kat daha fazladır ve karşılıklı inhibitör etkisi gösterir (62).

İnsanda D-LDH enzimi olmamasına rağmen D-laktik asit, D-2-hidroksi asit dehidrojenaz (D-2-HDH) enzimiyle piruvat haline getirilerek metabolize edilir (**Şekil 2.3**) (63). D-2-HDH insan dahil birçok memeli hayvan türünün karaciğer ve renal korteks hücrelerinde yüksek aktiviteye sahip, intramitokondriyal, spesifik olmayan bir flavoproteindir (24). Sınırlı bir pH aralığında aktiftir. Düşük pH, enzimin aktivitesini azaltır ve oksalat D-2-HDH'nin yarışmalı inhibitörüdür. Enzim, substrat olarak D-laktat dahil tüm D-2-hidroksi asitleri kullanabilir (5, 60, 64, 65). D-2-HDH'nin etkinliği doyurulabilir, bu nedenle yüksek D-laktat düzeylerinde metabolizma azalır (66).

D-laktik asidin, D-2-HDH ile piruvata dönüşümü, L-laktik asidin L-LDH ile piruvata dönüşümünden daha yavaştır. L-LDH'nin Vmax değeri farklı dokularda cm³ başına 5 ila 97 μ mol/dk ($v = \sim 50$ μ mol/dk) olarak bildirilmiştir (67). D-2-HDH için bu değer mL başına $v = 5-20$ μ mol/dk olarak gösterilmiştir (68). Enzim, miktar olarak da L-LDH kadar yüksek

miktarlarda değildir. Bu nedenle de, normal fizyolojide D-laktat metabolizması L-laktat metabolizmasından birkaç kat daha yavaştır (24, 64, 65, 69, 70).

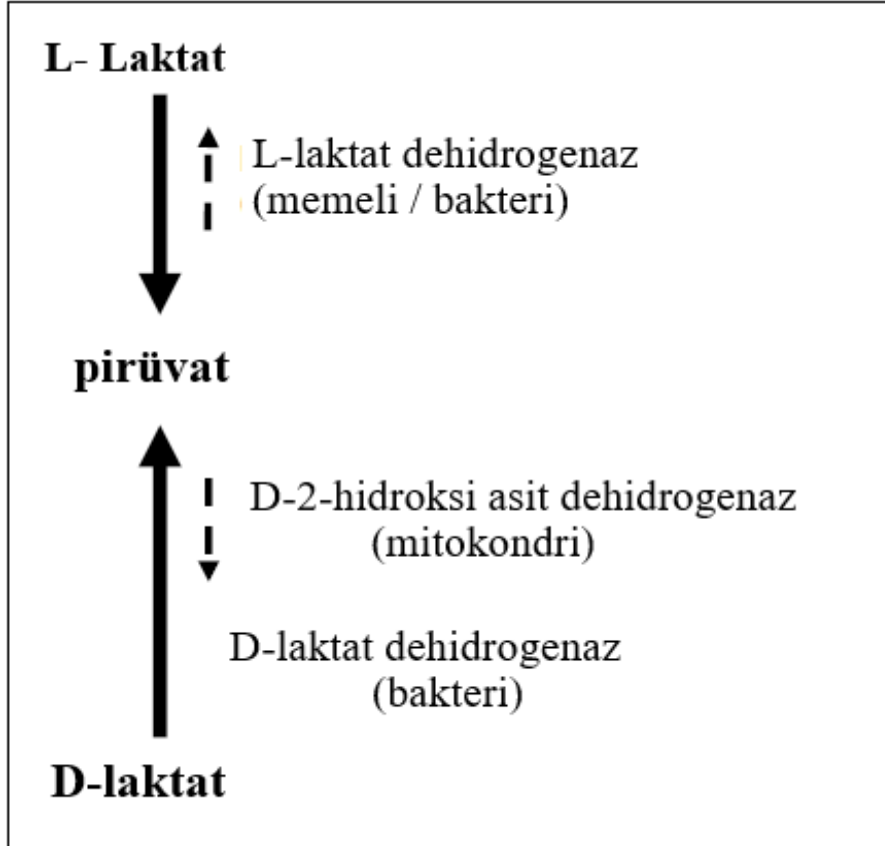
Oral ve intravenöz D-laktatın sağlıklı deneklere uygulanmasını içeren deneylerde D-laktatın kandan 20 ila 40 dakikalık bir yarı ömürle elimine edildiği gösterilmiştir. Toplam vücut klirens oranlarından yapılan tahminler ise, D-laktatın L-laktata göre beş kat daha düşük oranda metabolize olduğunu göstermektedir (58, 71).

Memelilerde D-laktik asitin ana atılım yolu böbreklerdir (70). D-laktat için böbrek eşiği, L-laktatın böbrek eşiğinden çok daha düşüktür ve intravenöz olarak infüze edilen D-laktatın önemli bir kısmı idrarla atılır (72). Renal atılım, D-laktatın eliminasyonunda önemli bir kaynak olduğundan, serum D-laktat seviyeleri düşük veya tespit edilemese de idrarda D-laktat tespit edilebilir. D-laktat, hepatik ve ekstrahepatik dokular tarafından da alınabilir (73). Ancak hepatik metabolizma yavaştır (60).

Laktatın renal tübüler reabsorbsiyonu elektrokimyasal potansiyel farka karşı meydana gelir (74). Hem L- hem de D-laktat muhtemelen aynı sodyum kotransport sistemini kullanarak birbirlerinin renal tübüler reabsorbsiyonunu karşılıklı olarak etkiler (72). Laktatın renal tübüler reabsorbsiyonu idrar hacmindeki artışla azalır (75). Yüksek dozlarda L-laktat reabsorbsiyonu % 70'i aşarken, D-laktat reabsorbsiyonu çok düşük dozlarda bile asla % 50'yi geçmez (72). D-laktatın 3.0 mmol / L'den daha yüksek plazma seviyelerinde, renal tübüler reabsorbsiyonu % 30'a kadar azalır (72).

Genel olarak serum D-laktat konsantrasyonları ihmal edilebilir düzeydedir ve bazen tespit edilemez. Çünkü normal şartlar altında üretilen laktat, mikroorganizmalar tarafından asetat ve diğer kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürülür ve kullanılır (76).

Yapılan çalışmalarda sağlıklı bireylerde, intravenöz veya oral yoldan verilen D-laktik asidin verimli bir şekilde metabolize edilebildiği gösterilmiştir (55). ¹⁴C etiketli D-laktat kullanılarak yapılan bir başka deneyde ise, D-laktatın kolayca metabolize edildiği ve idrarla atıldığı saptanmıştır (72). Özetle, literatürde mevcut olan verilerin çoğu, D-laktatın memeliler tarafından etkin bir şekilde metabolize olduğunu göstermektedir (56, 58, 70, 71, 77-80).



Şekil 2.3: D- ve L-laktat metabolizması

2.5. D- Laktik Asidoz

D-laktik asidoz (DLA), serum D-laktat düzeyinin ≥ 3 mmol/L yükselmesiyle ortaya çıkan artmış anyon açıklı metabolik asidoz olarak tanımlanır (5). İnsanlarda nadir bir metabolik olaydır. İlk olarak 1979 yılında Oh ve arkadaşları (81) tarafından tekrarlayan ensefalopati ve metabolik asidoz atakları ile kısa barsak sendromlu bir hastada tanımlanmıştır. Bununla birlikte bu durum veteriner hekimlikte iyi bilinmektedir ve insanlarda varlığı tespit edilmeden çok önce ruminantlarda tanımlanmıştır (82).

2.5.1. Patofizyoloji

Her gün kayda değer miktarda organik asit, gastrointestinal sistemdeki bakteriyel metabolizma ile üretilir. Sağlıklı insanlarda, organik asit üretiminin çoğu bakteri ve fermantasyon için uygun substratın bir arada bulunduğu başlıca bölge olan çekumda gerçekleşir. Bu substratlar, kolonik bakteriler tarafından fermente edilmiş sindirilemez lif, bazı diyetle alınmış mono- veya disakkaritler ve tam sindirim veya emilimden (veya her ikisinden) kaçan nişastadır (83). Normal koşullar altında sağlıklı bireylerde organik asitlerin üretim oranı onları metabolize etme kapasitesini aşmadığı için genellikle herhangi bir metabolik dengesizliğe neden olmaz. (76).

Genellikle kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) bütirat, propionat ve asetat, sağlıklı bireylerin dışkısında bulunan birincil organik asitlerdir. Bu SCFA'lar, kolon mukoza hücreleri için ana enerji kaynağıdır ve vücut için de bir enerji kaynağı olarak işlev görebilir. SCFA'ların jejunum, ileum ve kolonda bağırsak büyümesini desteklediği; sıvı ve elektrolitlerin kolonik emilimini arttırdığı gösterilmiştir (84). Tipik olarak sağlıklı kişilerin dışkısında L- ve D-laktat çok düşük konsantrasyonlarda bulunabilir (85). Bu durum, normal bağırsak bakteri florası tarafından her iki laktat izomerinin SCFA'ya dönüştürülmesinin, laktat üretim hızına eşit olduğunu göstermektedir (76).

DLA artmış üretim ve absorpsiyon, azalmış metabolizma ve ekskresyon kapasitesine bağlı olarak multifaktöriyel gelişen bir durumdur. Nadir fakat ciddi bir metabolik komplikasyon olan DLA gelişimi için normal bağırsak florasında bir değişikliğinin gerekli olduğuna inanılmaktadır (1).

DLA patogenezi kısa barsak sendromunda iyi aydınlatılmıştır (44). Normal uzunluktaki bağırsakların aksine, kısa barsak sendromunda, proksimal bağırsaktaki malabsorpsiyon nedeniyle basit şekerler de dahil olmak üzere anormal derecede fazla miktarlarda sindirilmiş veya kısmen sindirilmiş karbonhidrat kolonik bakterilere ulaşır. Nispeten fazla miktarda karbonhidrat fermente edildiğinden yüksek miktarda organik asit (LA ve SCFA gibi) üretilir. Organik asitlerden ortaya çıkan asit yükü, kolonun lümen pH'ını düşürür. Bu düşük kolonik pH, aside dirençli laktat üreten bakterilerin çoğalmasını arttırdığından bağırsak florasında değişikliğe neden olur. Hem D- hem de L-laktik asit üreten bakteri popülasyonları (bazı *lactobacillus* türleri gibi) kolonda arttıkça pH daha da düşer ve baskın flora haline gelir. Barsak florası yüksek miktarda D-laktat üreten bakteri konsantrasyonuna sahip olduğunda, bakteriyel fermantasyon yoluyla daha fazla miktarda D-laktat üretimi meydana gelir (1).

Laktik asit üreten bakterilerin bağırsak florasında baskın olması, laktatı SCFA'ya dönüştürebilen bakteri sayısında azalmaya da neden olabilir. Bu nedenle kolondaki SCFA üretimi önemli ölçüde düşer. Daha önce belirtildiği gibi, normal olarak her iki laktat izomeri, bağırsak bakterileri tarafından kolonik laktat üretim hızına eşit oranda SCFA'ya dönüştürülür. Bu, bağırsak laktat seviyelerinin aşırı hale gelmesini önlemeye yardımcı olur. Bu nedenle laktatı SCFA'ya dönüştürebilen bakteri sayısındaki azalmayla, fekal laktat konsantrasyonunu azaltan mekanizmalarından biri bozulur (1).

D2-HDH enziminin aktivitesi doyurulabilir, bu da yüksek D-laktat seviyelerinde daha yavaş metabolize edilmesine neden olur (71). Daha önce belirtildiği gibi, en yüksek D-2-HDH konsantrasyonu böbrek ve karaciğerde bulunur. Bu iki organ genellikle kısa bağırsak sendromunda etkilenerek potansiyel olarak D-2-HDH konsantrasyonunu ve D-laktat metabolizmasını azaltır. Bu hastalarda hem böbrek hem de karaciğer fonksiyonlarının önemli ölçüde dalgalanması ve değişken D-2-HDH aktivitesine yol açması nadir değildir. Karaciğer hastalığına bağlı hepatik metabolizmanın bozulması veya kronik böbrek yetmezliğinde atılımın bozulması da D-laktat birikmesine ve DLA gelişimine katkıda bulunabilir (86, 87).

D-laktat için böbrek eşiği, L-laktata göre önemli ölçüde daha düşüktür ve renal fraksiyonel atılım yüksektir (72). Kan D-laktat düzeyi yeterince yükseldiğinde, kan düzeyini düşürmede önemli bir rol oynadığı görülmektedir (71, 72). Bozulmuş böbrek fonksiyonu veya dehidratasyonda olduğu gibi hacim azalması D-laktatın renal atılımını azaltarak plazma seviyelerini arttırır (5).

Kısa bağırsak sendromu olan hastalarda kolonda aşırı oksalat emilimi nedeniyle kan ve idrar oksalat seviyeleri sıklıkla yükselir. Oksalat, D-2-HDH'nin güçlü bir inhibitörüdür. Aynı zamanda oksalat, böbrek taşlarına neden olarak böbrek fonksiyonlarını bozabilir. Bu durum da D-laktat metabolizmasını doğrudan ve dolaylı olarak etkileyebilir (1, 44).

Bazı yazarlar, yüksek plazma organik asit seviyelerinin D-laktat metabolizmasını inhibe ederek plazmada D-laktat birikmesine katkıda bulunabileceğini öne sürmüşlerdir (63). Gastrointestinal sistemden emilen organik asitler, biyokimyasal olarak metabolizmaları sonucu piruvat veren (laktat, propiyonat) ve asetil-CoA (asetat, bütirat) veren organik asitler olarak iki sınıfa ayrılır. Propiyonat gibi organik asitler ve her iki laktat izomeri piruvata dönüştürülür. Oluşan piruvat, piruvat dehidrogenaz (PDH) enzimi yoluyla asetil CoA'ya metabolize edilir. Asetat ve bütirat içeren organik asitler ise direkt asetil CoA'ya metabolize edilir (1). DLA'da olduğu gibi yüksek organik asit konsantrasyonu, asetil-CoA birikmesine yol açabilir, bu da PDH'yi inhibe eder. Bu durum piruvat birikimi ile sonuçlanır. Piruvat birikimi D-2-HDH ve LDH'yi inhibe ederek D-laktat ve L-laktat birikmesine yol açabilir. Böylece propiyonat ve laktatın metabolize edilmesi engellenerek kan laktat konsantrasyonları daha da artar (63).

Bir diğer görüşe göre gastrointestinal kanaldan emilen ve portal ven yoluyla karaciğere verilen organik asitler oksidasyon için yarışarak D-laktatın oksidasyon hızını yavaşlatır. Bu nedende asidoz atakları sırasında kolonik fermantasyonla artan organik asitler D-laktik asit seviyesinin daha da artmasına katkı sağlar (63).

Bağırsak florasının bileşimi, DLA gelişiminde çok önemli gibi görünmektedir. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, kısa bağırsak sendromu olan hastalar genellikle daha düşük dışkı pH'ına, daha düşük SCFA seviyelerine ve daha yüksek dışkı L- ve D-laktat konsantrasyonuna sahiptir. Hastaların %82'sinde dışkıda yüksek D-laktat seviyeleri gösterilmiş, ancak sadece % 9'unda asidoz belirtileri olmadan plazma D-laktat

konsantrasyonlarında artış tespit edilmiştir (85). Ayrıca, fekal D-laktat düzeyleri asidozu olmayan hastalarda D-laktik asidozlulara göre daha yüksek olabilir (46, 88). Bu durum D-laktik asidin bağırsak florası tarafından aşırı üretilmesinin yanı sıra, D-laktik asidoz gelişiminde hala başka faktörlerin olabileceğini düşündürmektedir.

Antibiyotik tedavisi bağırsak florasını hızla değiştirebilir. Kısa bağırsak sendromu olan hastalarda antibiyotik kullanımı, D-laktik asit üreten bakterilerin seçici olarak hayatta kalmasına neden olabilir. Böylece bağırsak florası üzerinde değişken ve öngörülemeyen etkiler ortaya çıkarak D-laktik asidoz gelişimine neden olabilir. Birkaç vaka raporunda tetrasiklin, metronidazol (89), trimetoprim-sülfametoksazol (90) ve vankomisin (91) gibi çeşitli antibiyotiklerin uygulanmasından sonra hastalarda DLA'un geliştiği tanımlanmıştır.

Motilitenin azalmasının, karbonhidratların fermente edilmesi ve D-laktatın emilmesi için daha fazla zaman sağlayarak DLA gelişimini arttırdığı öne sürülmüştür (92). Ancak hastalarda diyare ve hızlı bağırsak geçişinde de D-laktik asidoz geliştiği görülmüştür (1).

Bununla birlikte DLA, malabsorpsiyon sendromu veya gastrointestinal bozukluğu olmayan hastalarda da ortaya çıkabilir. Jorens ve arkadaşları (54) sağlıklı bir bireyde büyük miktarda propilen glikol tüketiminden sonra gelişen ciddi bir DLA vakası bildirmiştir. Bu dihidroksi alkolün ağız yoluyla alındığında düşük toksisiteye sahip olduğu düşünülmektedir, çünkü zayıf bir şekilde emilmektedir. Bununla birlikte kolonik bakteriler propilen glikolu D-laktata fermente edebilir (54).

Sonuç olarak D-laktat üretim oranı, metabolizma ve atılım kapasitesini aştığında D-laktik asit kanda birikir ve asidemi, metabolik asidoz ortaya çıkar. Kandaki D-laktat seviyelerinin D-laktik asidozda görülen konsantrasyonlara ulaşması için çeşitli faktörlerin rol oynayabileceği görülmektedir. Bu faktörler hem D-laktat üretimi hem de metabolizmasıyla ilgilidir. D-laktat birikmesine yol açan potansiyel faktörler **Tablo 2.1**'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1: D-laktat birikimine katkıda bulunan olası faktörler

1. D-laktat üreten bakterilerden zengin bağırsak florasının varlığı
2. Düşük bağırsak pH'ı
3. D-laktat üreten bakteriler açısından zengin bir bağırsak florasını destekleyen antibiyotiklerin veya probiyotiklerin kullanımı
4. Kolonda aşırı D-laktat üretimine yol açan nispeten fazla miktarda kolay fermente edilen karbonhidratların alınması ve emilememesi
5. D-laktatı kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürebilen bağırsak bakterilerinin popülasyonunun azalması
6. Kolon bakterileri tarafından üretilen miktara ilave ek olarak ekzojen D-laktat kaynaklarının (D-laktat içeren gıdalar, ringer laktat ve periton diyaliz solüsyonları) alınması
7. D-2-hidroksi asit dehidrojenazın inhibisyonu veya sınırlı miktarda olması nedeniyle D-laktatın metabolizmasının azalması
8. D-laktatın azalmış böbrek atılımı

2.5.2. Klinik Bulgular

DLA genellikle gastrointestinal hastalıklara ikincil olduğu için birçok hastada gastrointestinal hastalıkta görülen genel klinik semptom ve bulgular gözlenebilir. Spesifik olmayan klinik belirtilerden bazıları karın ağrısı, şişkinlik, iştahsızlık, dehidratasyon, kusma, yarı katı dışkılama veya ishal, ateş, baş ağrısı, kilo kaybı, halsizlik ve primer hastalığa bağlı diğer belirtilerdir (1, 5, 44, 87, 93). Metabolik asidoza takipne eşlik edebilir.

DLA'nın en önemli ve ana klinik özelliği nörolojik bozulmadır (1, 5). Önemli nörolojik semptomlar arasında bilinç değişikliği, konuşma bozukluğu, nistagmus, bulanık görme, konsantrasyonda zayıflık, hafıza kaybı, somnolans, koma, ataksi, yürüme bozukluğu, bozulmuş motor koordinasyon, agresif davranış, konfüzyon, depresyon, ensefalopati bulunur (66, 92, 94, 95). Nörolojik semptomların başlangıcı, bağırsak rezeksiyonu veya bypass cerrahisi olan hastalarda genellikle birkaç aydan birkaç yıla kadar bir gecikmeden sonra görülebilir. Bu süre zarfında bağırsak florasında bir değişikliğin meydana geldiği öne sürülmüştür (50).

Kısa barsak sendromlu hastalar sıklıkla kronik düşük dereceli olarak yükselmiş serum D-laktat seviyelerine sahiptir. Ancak bu düzeyler genellikle semptomları indüklemek için yeterli değildir (96). Bununla birlikte bazı hastalarda karbonhidrat yüklemesi ciddi ve semptomatik DLA'ya neden olabilir. Bu hastalar tipik olarak epizodik metabolik asidoz (genellikle karbonhidrattan zengin öğünlerden sonra) ve yukarıda bahsedilen nörolojik bozuklukları gösterir (76, 97, 98). Literatürde bildirilen 29 vakanın gözden geçirilmesinde tüm hastalarda bir dereceye kadar değişen zihinsel durum görülmüştür (98).

2.5.2.1. Nörolojik Bulguların Mekanizması

DLA'daki nörolojik belirtileri açıklamak için iki ana hipotez öne sürülmüştür: 1) D-laktatın kendisi beyin için toksiktir ve 2) D-laktat ile birlikte üretilen bilinmeyen bileşikler beyin için toksiktir.

D-laktat, basit difüzyonla merkezi sinir sistemine girebilir ve beyinde yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir (99). Beyin dokusunda D-laktatı metabolize eden D-2HDH enzimin daha az miktarlarda bulunması nedeniyle D-laktatın daha az metabolize edilmesi ve beyin dokusunda daha fazla biriktiği söylenmektedir (81). Bununla birlikte D-laktat kan-

beyin bariyerini geçmesine rağmen, hastaların beyin omurilik sıvısı ve kandaki D-laktat seviyelerinin eşit olduğu ve kandaki miktarı geçmediği bulunmuştur (95, 100).

Kısa barsak sendromlu hastalarda görülen bu nörolojik semptomlar plazma veya beyin omurilik sıvısı D-laktat konsantrasyonları ile korele değildir. Bazı hastalarda ensefalopati yüksek plazma D-laktat seviyeleri olmadan da ortaya çıkabilir. Sağlıklı bireylerde, oral veya intravenöz D-laktat uygulaması sonrası DLA tanımına uyan konsantrasyondan iki kat daha yüksek kan seviyeleri elde edilmesine rağmen herhangi bir nörolojik semptom olmadığı görülmüştür (71, 72). Bu nedenle, sadece D-laktik asit veya asidoz, nörolojik belirtileri ortaya çıkarmada yeterli görünmemektedir. D-laktat seviyeleri ile nörolojik belirtiler arasındaki tutarsızlıklar nedeniyle, DLA'lu hastalarda gözlenen semptomlar, üretilen diğer potansiyel nörotoksik maddelerden (örn. merkaptanlar, aldehidler, alkoller ve aminler) kaynaklanabilir. Bu toksinler nörotransmitter fonksiyonlarını taklit edebilir ve bu nedenle nörolojik semptomların gelişmesine neden olabilir veya katkıda bulunabilir (66, 76).

Ek olarak tiamin eksikliği de D-laktat ensefalopatisine katkıda bulunabilir (101). Literatürde yeterli antibiyotik tedavisine rağmen DLA'a bağlı tekrarlayan ensefalopati atakları gelişen, artmış eritrosit transketolaz seviyesi ile tiamin eksikliği gösterilen ve tiamin replasman tedavisinden sonra atakları tekrarlamayan bir vaka tanımlanmıştır (102). Ancak tiamin eksikliğinin, bu bileşiği ölçmek için spesifik bir enzimatik yöntem kullanıldığında D-laktat üretimini arttırdığı gösterilememiştir (103). Bu vitamin serebellumda PDH kompleksinin fonksiyonu için gerekli olduğundan, yetersizliğinde piruvat birikimine neden olabilir ve DLA'lu hastalarda nörolojik semptomlara katkı sağlayabilir (1). Bununla birlikte, bu bozukluk ve bununla ilişkili nörolojik semptomlar normal piruvat düzeyleri ile de görülmüştür (104). PDH kompleksinin D-laktat veya tiamin konsantrasyonlarına (veya her ikisine) duyarlılığındaki bireyler arası varyasyon, hastaların farklı D-laktat kan konsantrasyonlarında ensefalopati atakları geçirdiği klinik gözlemi açıklayabilir (63).

Özetle, DLA'da görülen nörolojik semptomlar için birkaç presipite edici faktörün bir arada olması gerektiği görülmektedir (4).

2.5.3. Tanı

DLA’u olan hastalar mental durum değişikliği, konuşma bozukluğu, oryantasyon bozukluğu, konsantrasyonda zorluk, hafıza bozuklukları, uyku hali, halsizlik, ataksi, anormal yürüyüş, motor koordinasyon sorunları ve hatta koma dahil olmak üzere çeşitli nörolojik rahatsızlıklar ile başvurabilirler. Davranış bozuklukları görülebilir. Genellikle sarhoş gibi görünürler, ancak kanda alkol tespit edilmez. İlk ensefalopati atakları, olayın ciddiyetine ve süresine bağlı olarak bildirilmeyebilir. Nörolojik semptomlar bazen diğer nedenlere atfedildiğinden tanıda gecikme yaşanabilir (96).

Kısa bağırsak sendromu veya başka bir malabsorpsiyon sendromu olup da başka nedenlerle ilişkilendirilemeyen nörolojik semptomlar ve metabolik asidozu bulunan hastalarda DLA düşünölmelidir. Antibiyotik kullanan (89-91) veya D-laktat üreten bakteri (105) içeren probiyotik alan hastalarda DLA gelişme riski artabilir çünkü her iki tedavi de bağırsak florasını değiştirir.

Laboratuvar analizinde tipik olarak artmış serum anyon açığı ile metabolik asidoz görülür. Bununla birlikte serum anyon açığı, klorür seviyeleri arttığında normal olabilir (96). Yani hastalarda ya artmış anyon açıklıklı hiperkloremik metabolik asidoz ya da nadiren saf bir hiperkloremik metabolik asidoz görülebilir.

L-laktatın serum seviyesi yükselebilir, ancak genellikle normaldir. Tanı, D-LDH kullanan özel enzimatik testlerle doğrulanır. Laktat için standart enzimatik laboratuvar analizi, L-LDH kullandığı için D-laktatı tespit etmez. Kromatografik testler stereospesifik değildir ve bunlar hem D- hem de L-laktatı ölçer (97). Bu nedenle D-laktat analizi için özel laboratuvar prosedürleri gerekir (1).

Genellikle epizodik ve saatler ila günler sürebilen nörolojik ataklar sırasında plazma D-laktat seviyeleri yükselir. Tam bir fikir birliği olmamasına rağmen, DLA’un tanımlanmasında sıklıkla 3 mmol / L plazma D-laktat konsantrasyonu kullanılır (5). D-laktat seviyelerinin nörolojik bozukluk döneminde elde edilmesi gerekir, çünkü semptomların düzelmesiyle kan seviyeleri hızla düşer (1).

D-laktik asit üreten bakterilerin yüksek konsantrasyonunu gösteren dışkı mikrobiyota analizi de metabolik asidoz ve nörolojik semptomların bir nedeni olarak D-laktik asidoza işaret edebilir (66). Dışkıda D-laktat seviyelerinin saptanması, DLA tanısını doğrulamaya yardımcı olabilir. Bununla birlikte, mutlak değerlere göre D-laktat / L-laktat oranının değişmiş kolonik mikrobiyotanın daha iyi bir metabolik göstergesi olduğu düşünülmektedir (106).

Klinik öykü tanı koymada yararlı bir araçtır. DLA' u olan hastalar genellikle geçmişte mevcut atakta olanlara benzer nörolojik semptomları sergiler. Diyet öyküsü tanıya katkıda bulunabilir. DLA' u olan hastalar sıklıkla semptomların başlamasından önce nispeten fazla miktarlarda karbonhidrat yediklerini bildirmişlerdir (1).

DLA şüphesine yol açan klinik veya biyokimyasal bilgiler, tedaviye verilen yanıtla sıklıkla doğrulanır veya desteklenir. Uygun tedavi sıklıkla nörolojik semptomların hızlı bir şekilde düzelmesini sağlar (1).

2.5.4. Tedavi

DLA genellikle karbonhidrat kısıtlamasına ve intravenöz hidrasyona cevap veren geçici, kendi kendini sınırlayan bir durumdur. DLA' un uygun tedavisi hastanın klinik durumuna bağlıdır. Akut atak sırasında enteral karbonhidrat alımını önlemek, D-laktat üretiminin birincil kaynağını ortadan kaldırır. Bu aynı zamanda fermentasyon kaynağını azaltarak bağırsak florasının azalmasına da neden olur (94). Nörolojik semptomlar düzeleneye kadar karbonhidrat desteği parenteral olarak sağlanmalıdır.

Klindamisin, tetrasiklin, vankomisin, kanamisin ve neomisin gibi zayıf emilen antibiyotiklerin ağızdan kullanılması, aside dirençli bakterilere karşı etki ederek bağırsak florasını seçici olarak değiştirebilir (63). Akut atak sırasında karbonhidrat kısıtlaması, rehidrasyon ve antibiyotik uygulaması ile nörolojik semptomlar saatler veya birkaç gün içinde düzelir. Bununla birlikte, gerekli olan antibiyotik tedavisinin uzunluğu değişkendir. Antibiyotik tedavisinin başarısı ve nörolojik semptomların düzeme süresi hastadan hastaya büyük ölçüde değişmektedir. Sık tekrarlayan ensefalopati atağı yaşayan bazı hastalarda, D-laktat üreten bakterilerin daha kalıcı bir şekilde baskılanmasını sağlamak için sürekli antibiyotik rejimi kullanmak gerekebilir. Bu rejimler bazen uzun süreli antibiyotik

kullanımının zararlı yan etkilerini azaltmak için periyodik kısa aralıklar içerir. Antibiyotik tedavisinin değişken etkinliği nedeniyle D-laktat üreten bakterileri sınırlamada en başarılı olabilecek yöntem olarak, spesifik antibiyotiklerin tanımlanması için dışkı kültürü antimikrobiyal duyarlılık testlerinin kullanılması gerektiği ileri sürülmüştür (89). Bazı antibiyotiklerin DLA'a neden olduğu da bildirilmiştir (89, 90). Bu nedenle antibiyotik tedavisi, bazı hastalarda D-laktat ensefalopatisini hızlandırabileceği ihtimaline karşı dikkatle kullanılmalıdır.

Asidozu düzeltmek için intravenöz bikarbonat ve hidrasyon uygulanabilir. Hidrasyonda, hem D-laktat hem de L-laktat içerdiği için ringer laktat çözeltilerinden kaçınılmalıdır. Yeterli hidrasyonun sürdürülmesi, böbrek taşı riskini azaltmada, böbrek fonksiyonlarını iyi sürdürmede ve D-laktatın renal klirensini optimize etmede önemlidir (1). Ciddi DLA vakalarında hemodiyaliz, D-laktatın kandan hızlı bir şekilde temizlenmesini sağlamak amacıyla iyi sonuçlarla kullanılmıştır (54).

Daha önce belirtildiği gibi oksalat, D-2-HDH enziminin güçlü bir inhibitörüdür. Ek olarak, kısa bağırsak sendromlu hastaların % 25'inde böbrekte kalsiyum oksalat taşları gelişir (107). Bu nedenle serum oksalat düzeyini kontrol etmek önemlidir. Hiperoksalüri tespit edilirse, az yağlı, ve düşük oksalatlı bir diyet düşünülmelidir. Alternatif olarak, diyetle kalsiyum ilave edilebilir. Bu takviye, oksalata bağlanan mevcut kalsiyum miktarını artırır ve oksalat emilimini inhibe eder. Kalsiyum takviyesi bağırsak pH'ını arttırmaya da yardımcı olabilir, bu da in vitro gösterildiği gibi bağırsak bakterileri tarafından D-laktat üretiminin azalmasına neden olabilir (49).

Diyet değişiklikleri, DLA'un tekrarını önlemek için yetersiz olduğunda, bağırsak florasını olumlu yönde değiştirmek için önlemler kullanılmalıdır. Probiyotiklerin DLA için antibiyotik tedavisine alternatif veya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Probiyotikler ile anormal D-laktat üreten floranın baskılanması, barsağın patojenik olmayan ve D-laktat üretmeyen bakterilerle yeniden kolonizasyonu nüksün uzun süreli önlenmesi için önemlidir (92). Bununla birlikte probiyotikler dikkatle seçilmelidir, çünkü bazı probiyotikler D-laktik asit üreten ve böylece DLA'a neden olabilen *Lactobacillus acidophilus* gibi bakteri suşları içerebilir (105). Probiyotikler bir tedavi rejiminde kullanılacaksa seçilen probiyotiğin D-laktat üreten bakterilerden yoksun olması önemlidir (1). Sadece probiyotik bakterileri değil

aynı zamanda galaktooligosakkarit gibi prebiyotikleri de içeren simbiyotikler, sadece bağırsağı yeniden kolonileştirmekle kalmaz, aynı zamanda bağırsak bakterileri tarafından SCFA sentezini de arttırabilir. Kısa zincirli yağ asitlerinin bağırsak epiteli proliferasyonu üzerinde olumlu bir etkisi vardır ve bağırsak hareketliliğini uyarır (108). Böylece simbiyotiklerle, D-laktat muhtemelen kolonda emilmeden önce dışkı ile elimine edilir (86).

Diyet ve tıbbi tedavilerin başarısız olduğu durumlarda bağırsak yüzeyini arttırma veya bağırsak “bypass”lı hastalarda bağırsak sürekliliğini yeniden sağlama operasyonları tek alternatif olabilir (44). Jejunioileal bypass hastalarında cerrahi düzeltme, DLA için başarılı bir tedavi olmuştur ve dikkate alınmalıdır (109). Kısa bağırsak sendromu olan hastalarda intestinal absorpsiyonu iyileştiren ameliyatlara, örneğin bağırsak uzatma ameliyatları veya ince bağırsak nakli sorunu çözebilir (44).

Alternatif bir başka tedavi yöntemi olarak literatürde tekrarlayan DLA atağı yaşayan çocuk hastalar, fekal mikrobiota transplantasyonu ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir ve tekrarlayan dirençli vakalarda standart tedavi rejimi olarak kullanılması gündeme gelmiştir. (110, 111).

2.6. Bağırsak Florası (Mikrobiyota)

Bağırsak florası (mikrobiyota), bağırsakta birlikte yaşayan bakteri, virüs, mantarlar dahil olmak üzere tüm mikroorganizmalara verilen genel isimdir (7). Gastrointestinal mikrobiyota, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu için bir bariyer sağlayarak, önemli metabolik fonksiyonlar (sindirilemez liflerin fermantasyonu, kısa zincirli yağ asitlerini kullanarak enerji tasarrufu ve K vitamini üretimi gibi) sağlayarak ve bağışıklık sisteminin gelişimini destekleyerek insan sağlığında önemli bir rol oynar (8). Bağırsak mikrobiyotası insan sağlığında birçok alanda rol oynadığı için bu mikrobiyal ekolojinin bileşiminin nasıl kurulduğunu anlamak önemlidir.

Tipik olarak insan vücudu, 100 trilyon mikroorganizma içerir ve bu vücuttaki toplam çekirdekli hücre sayısının yaklaşık 10 katına eşdeğerdir (112, 113). Kolon, en az 30 tanımlanmış cins ve 500'e kadar farklı tür ile insanındaki en büyük mikroorganizma deposudur (112, 114, 115).

Gastrointestinal floranın olgunlaşması, uterus içinde başlayan ve doğumdan sonra da devam eden karmaşık, uzun bir süreçtir. Farklı gelişim aşamalarında “sağlıklı” bir flora bileşiminin standartlaştırılmış bir tanımı yoktur ve floranın erken yaşamda kurulmasına katkıda bulunan ana faktörlerin anlaşılması halen zordur (116).

Bağırsak florasının gelişimi ile konağın genotipi ve fenotipi arasındaki ilişki, kültürden bağımsız tekniklerdeki teknolojik ilerlemeler sayesinde (örn; genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik) daha geniş mikroorganizma çeşitliliğinin saptanmasını kolaylaştırdığı için artan ilgi görmüştür (117). Bu çalışmalar, her bebekte bağırsak flora içeriğinin idiyosenkratik olduğunu ve doğumdan sonraki ilk günden itibaren anlamlı olarak kişiler arası varyasyonun ortaya çıktığını göstermiştir (118-120).

Yenidoğan bağırsağında bulunan en yaygın bakteriler (tanımlanan tüm türlerin % 93.5'i) dört farklı filuma aittir: *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*. Daha sonra filumun içinde mikroorganizmalar belirli bir alt sınıf, cins, tür ve suş temelinde sınıflandırılır. Bununla birlikte, mikrobiyal kolonizasyonun gastrointestinal sistemde eşit bir dağılımı yoktur, proksimal ve distal kolon mikroorganizmaların en yoğun bulunduğu iki segmenttir (113).

Bebeklerde bağırsak flora içeriğinin sayısı ve çeşitliliği bebek büyüdükçe artar (121, 122). Yaklaşık üç yaşına gelindiğinde, bağırsak florası olgun yetişkin anaerobik bağırsak florasına benzeyen çeşitlilik ve karmaşıklığa kavuşur (121, 123, 124).

Normal şartlar altında bağırsak florası ile konak arasında, enerjinin depolanması ve toplanması (125), konağın bağışıklık sisteminin gelişimi (9, 114), bağırsak homeostazisinin sürdürülmesi (126) ve besinlerin işlenmesi (120) konusunda simbiyotik bir ilişki görülür. Bağırsak florası ve konak arasındaki etkileşimler, bireyin sağlığı üzerinde daha sonraki yaşamda da derin bir etkiye sahiptir (127). Bağırsak florasının yapısının bozulması (yani disbiozis) enflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, alerjik ve otoimmün hastalıklarla ilişkilidir (128, 129).

Uzun zamandır bağırsakların doğumdan önce steril olduğu varsayıyordu (130-133). Çeşitli çalışmalar sonucunda intrauterin ortamın bir temsilcisi olan mekonyumda (118, 134,

135), amniyotik sıvıda (127, 136) ve plasentada (127, 137) bakteri, bakteriyel DNA veya bakteri ürünleri tespit edilmesiyle bu fikir geçerliliğini kaybetti.

Aagaard ve arkadaşları (138) *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Fusobacteria phyla* gibi patojenik olmayan kommensal mikroorganizmalardan oluşan bir plasental mikrobiyom profilini tanımladılar. Term yenidoğan bağırsak mikrobiyomu büyük ölçüde *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve daha az oranda *Firmicutes phyla* üyeleri tarafından oluşur (138, 139). Doğum ağırlığı 1200 gr'ın altındaki yenidoğanların, hem *Firmicutes* hem de *Tenericutes* üyeleri tarafından baskın bir bağırsak mikrobiyomuna sahip olduğu gösterilmiştir (138, 140, 141). Yenidoğan bağırsak mikrobiyomunun doğum zamanına yakın erken kolonileştiğine dair bu kanıt, antenatal dönemde plasenta gibi kommensal bakteri kaynağına maruz kalabileceğini düşündürmektedir (138).

Fetüs nörolojik olarak olgunlaştıkça, özellikle gebeliğin üçüncü döneminde büyük miktarlarda amniyotik sıvı yutmaya başlar. Son çalışmalarda gösterildiği gibi fetal bağırsak, uterus ortamındaki organizmalar tarafından kolonize edilebilir. Mekonyumun steril olmadığını gösteren çalışmalar bu teoriyi desteklemektedir (142). Ardisonne ve arkadaşları (143) yenidoğanlardan alınan mekonyum örneklerini değerlendirmiş ve mekonyumdaki bakteri türlerinin amniyotik sıvıda bulunan organizmalarla benzer olduğunu bulmuşlardır.

Bununla birlikte, plasental ve amniyotik sıvı örneklerinden canlı bakteri kültürünü göstermek zor olabilir. Sınırlı kanıtlara rağmen bu bulgular, doğumdan sonra enteral beslenme için gerekli koruyucu bariyeri hazırlayan intrauterin bağırsak gelişiminin flora gelişimi ile birlikte olduğunu göstermektedir (127).

2.6.1. Flora Gelişimi Etkileyen Faktörler

Mikrobiyota gelişimi üç aşamada incelenebilir. İlk aşama olan perinatal fazda, vajinal yolla doğan bebeklerde aynı mikroflora yenidoğanın farklı vücut bölgelerinde bulunur ve annenin vajinal ortamının bakteriyel bileşimi ile sıkı benzerlik gösterir. Yenidoğan mikrobiyotası gelişiminin ikinci aşamasında, yenidoğan bağırsağında aşamalı olarak fakültatif anaeroblar görülür. Farklı bakteri alt kümeleri diğer vücut bölgelerini kolonize ederek yetişkin bireylerdeki gibi bağırsak, cilt, vajina ve ağız boşluğunda farklı

topluluklara yol açar (144). Üçüncü aşama, bağırsak mikrobiyotasının beslenme ve antibiyotik tedavileri ile değişerek düzenlenmesidir (145).

Gastrointestinal floranın maturasyonu, yenidoğan döneminden itibaren bir dizi gelişim aşaması kaydeder. Mikrobiyal kompozisyonunun şekillenmesinde önemli bir rol oynayan ‘‘bireysellik’’ ile birlikte, birbiriyle ilişkili birkaç önemli faktör vardır. Bu faktörler yaş (146, 147), diyet (147, 148), konağın genetiği (148-150), antibiyotik kullanımı (147-149), doğum şekli (118, 148, 149), beslenme şekli (yani anne sütü veya formül mama) (118, 149) ve bebeklerin doğduğu-izlendiği çevredir (örn. Ameliyathane, Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi) (118). Bu bölümde doğum şekli, beslenme şekli ve antibiyotik kullanımının etkisinden bahsedilecektir.

2.6.1.1. Doğum Şekli

Erken dönemde, bağırsak mikrobiyotasının ilk ve en önemli belirleyicilerinden biri doğum şeklidir. Doğum şekli, bebeklerin doğum sırasında maruz kaldığı mikrobiyal popülasyonu belirler. Örneğin vajinal yolla doğan bebekler, annenin dışkı ve doğum kanalındaki kolonize mikroorganizmalara maruz kalır. Doğum sırasındaki bu direkt geçiş ile bebekler, kendi annelerinkine benzer bir floraya sahip olur (130, 151). Normal vajinal yolla doğan bebeklerde *Lactobacillus* ve *Prevotella* türleri gibi maternal vajinal florayı yansıtan bağırsak kolonizasyonu görülür (113). Maternal vajinal mikroorganizmaların yenidoğana direkt transmisyonu, diğer kommensal bakteri türlerinin floraya aşamalı kazanımını sağlar ve *S.aureus*, *C.difficile*, *C.perfigens* gibi patojen kolonizasyonun azalmasına yardımcı olur (152).

Doğum şeklinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisine iyi bir örnek, bebeğin Gİ kanalının *Lactobacillus* ile kolonize olması üzerine etkisidir. *Lactobacillus*, maternal vajinada oldukça bol ve spesifik bulunan bir bakteridir (129). Annenin doğum kanalından doğan bebeklerin mikrobiyom profillerinin bir parçası olarak *Lactobacillus* içerdiği ancak sezaryenle doğan bebeklerde baskın olarak bulunmadığı bildirilmiştir (153, 154). Ancak *Lactobacillus* saptama oranlarındaki bu fark üç yaşında ortadan kalkmıştır (154).

Martin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, normal spontan vajinal yolla (NSVY) doğan ve anne sütü ile beslenen bebeklerde ilk 20 gün içerisinde *Bifidobacteria* türlerinin

bağırsakta baskın hale geldiği, sezaryen ile (C/S) doğan bebeklerde ise kolonizasyonun altı aya kadar geciktiği tespit edilmiştir. Özellikle ilk üç aylık dönemde *Bifidobacterium longum* sıklığında spontan vajinal yol ile sezaryen doğum arasında belirgin fark olduğu gösterilmiştir (155).

Floradaki *Bacteroides* ve *Clostridium* cinsindeki (örn; *B. fragilis* ve *C. difficile*) bakteri seviyeleri de doğum şekli ile ilişkilidir (131, 134, 151, 155). Hollanda'da yapılan bir kohort çalışmasında (n= 1032), bir aylıkken toplanan dışkı örnekleri gerçek zamanlı kantitatif PCR analizleriyle incelendiğinde vajinal yolla doğan bebeklerde (n = 826), sezaryenle doğan bebeklere kıyasla nispeten yüksek sayıda *B. fragilis* ve daha az sayıda *C. difficile* tespit edildiği gösterilmiştir (131). *C. difficile* kaynakları hastane personelinin elleri ve çevresel faktörlerle ilişkilendirilebilir (131, 156). Özellikle *C. difficile* sadece hastanelerde bulunan bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (157) ve doğumdan önce kadınlarda vajinal sürüntüde bulunmadığı gösterilmiştir (158, 159). Bu durum, hastanede ve sezaryenle doğan bebeklerde saptanan yüksek *C. difficile* düzeylerini açıklayabilir (131).

İsveç'te 24 bebekte yapılan bir çalışmada, sezaryenle doğan bebeklerde (n = 9) vajinal yolla doğan bebeklere göre daha düşük miktarda *Bacteroidetes* (p = 0.002) gözlenmiştir (130). *Bacteroidetes* yoğunluğundaki bu fark doğumdan sonraki ilk iki yıl boyunca devam etmiştir (130). Özellikle, *Bacteroides* cinsinin üyeleri anne dışkısında spesifik olarak bulunur (129). Bu bulgular ışığında, bebeğin florasında *Bacteroides* türlerinin bulunması için doğum sırasında annenin dışkı ortamına maruz kalmasının merkezi rolü vurgulanmıştır.

Sezaryen ile doğan bebeklerin bağırsak florası annelerinin cilt florasına benzer bakteri topluluklarını bulundurur (129). *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Propionobacterium* ve *Corynebacterium* türleri hakimdir ve vajinal yolla doğmuş bebeklere kıyasla daha az sayıda *Bacteroides* ve *Bifidobacterium* gibi anaeroblari içerir (160-162). Muhtemelen bu bakteriler hastane ortamından ve bebeklerin doğum sonrası yaşamlarının ilk günlerinde temas ettiği diğer insanlardan elde edilir (152). Çevresel faktörlerin (örneğin doğum ortamı ve cerrahi ekipman, diğer bebekler ve sağlık çalışanları) sezaryen ile doğan bebeklerin florası üzerinde daha büyük bir etkisi olduğu görülmektedir (114, 155). Sezaryen ile doğan bebekler ilk olarak hastane ortamından ve sağlık çalışanlarından kaynaklanan bakterilere

maruz kalır (163, 164). Doğum şeklinin flora üzerine etkisinin yanında, elektif sezaryen ile acil koşullarda yapılan sezaryen arasında da flora üzerine farklılık olduğu gösterilmiştir (126)

Doğum şekli, bir bebeğin flora çeşitliliğini aylarca ve belki de doğumdan sonra daha uzun süre etkileyebilir. Jakobss ve arkadaşları (130) sezaryen ile doğan term bebeklerin, toplamda daha düşük toplam mikrobiyal çeşitlilik sergilediğini ve *Bacteroides* türleri ile bağırsak kolonizasyonun bir yıla kadar geciktiğini göstermiştir. Diğer bir çalışmada sezaryen ve vajinal yolla doğmuş çocuklar arasında bağırsak mikrobiyal kolonizasyonunda yedi yaşına kadar kalıcı farklılıklar olduğu gösterilmiştir (165).

Doğum şeklinin yaşamın ilk altı ayında gastrointestinal mikrobiyota üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada, doğum şekli ile birlikte gestasyonel yaşın da erken dönem bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerinin olduğu, bu etkilerin doğumdan 24 hafta sonra da devam ettiği, term ve preterm bebekler arasında da belirgin farklılıklar olduğu gösterilmiştir (166). Doğum şekli bebeğin sadece bağırsak mikrobiyotasını değil, ağız ve nazofaringeal florasını da etkiler. Sezaryen ile doğan bebeklerde, *Corynebacterium* ve *Dolosigranulum* gibi yararlı flora bileşenleri ile spesifik olarak azalmış kolonizasyon görüldüğü ve genel olarak respiratuvar mikrobiyota profillerinin gelişiminde bir gecikme olduğu tespit edilmiştir. Etkilenen bu respiratuvar floranın sık enfeksiyonlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (167).

Özetle, yapılan çalışmalar, sezaryenle doğan bebeklerde daha az sayıda anaerob (örneğin, *Bacteroidetes*); daha az çeşitlilikte bir mikrobiyota (131, 152, 155); mikrobiyal popülasyonun gecikmiş kolonizasyonunun görüldüğü (134) ve vajinal yolla doğan bebeklerden daha sık atopik hastalıklar (152) ve metabolik bozukluklara (168) sahip olduğunu göstermiştir. Ancak, bu çalışmalar etnik ve coğrafi çeşitlilik ve analitik metodolojilerdeki farklılıklar nedeniyle karmaşıktır.

Birlikte ele alındığında bu veriler doğum şeklinin yenidoğan bağırsağındaki bakteri kolonizasyonunun erken aşamasını etkilediğini ve sadece perinatal dönemde değil, bebeklik döneminde ve yetişkinlikte bile bağırsak mikrobiyotasının bileşimi üzerinde önemli bir rol oynadığını açıkça göstermektedir (119).

2.6.1.2. Beslenme Şekli

Beslenme şeklinin yenidoğan bağırsak mikrobiyotasının erken kolonizasyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Anne sütünün, Gİ floranın erken şekillenmesi üzerinde doğrudan etkili olduğuna inanılmaktadır (124, 169). Anne sütünün içerdiği bakteriyel çoğalma için gerekli temel besinler (169), immünomodülatör moleküller (170) ve mikroorganizmalar (171) sayesinde bu etki görülmektedir. Anne sütündeki oligosakkaritler, glikokonjugatlar ve anne sütünün doğal bileşenlerinin enteropatojenlere karşı koruduğu ve yararlı mikroorganizmaların çoğalmasını uyardığı düşünülmektedir (172-174).

Anne sütündeki oligosakkaritler bir prebiyotik türüdür. *Bifidobacteria* (175, 176) ve *Bacteroidetes* türleri dahil olmak üzere spesifik mikroorganizmaların çoğalmasını desteklediği; *Enterobacteriaceae* (176) gibi patojenik bakterilerin çoğalmasını engellediği bildirilmiştir. Anne sütündeki oligosakkaritlerin patojenik bakterilerin yüzeyi ile doğrudan etkileşime girdiği bilinmektedir ve patojenlerin veya toksinlerin konağın hücre reseptörlerine bağlanmasını engellediğine inanılmaktadır (177). İnterlökin-10, EGF, TGF- β 1 ve eritropoetin gibi anne sütünün diğer bileşenleri de, bağırsaktaki bakteriyel patojenlere karşı enflamatuvar yanıtta önemli araçlardır (178).

Staphylococcus, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* dahil olmak üzere birçok canlı bakteri anne sütünde bulunur (178). Anne sütü mikrobiyotasının bileşimi dinamikdir, annenin sağlığı ve doğum şekli dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenir (179). Maternal bağırsakta bulunan bakterilerin bir kısmının, süt bezlerine “enteromammary pathway” denilen endojen yolla ulaştığı ve muhtemelen anne sütünün bakteriyel bileşimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (162). Doğumdan sonraki ilk saatten itibaren emzirilen bebeklerin mekonyumu ile kolostrumdaki mikrobiyal kompozisyon arasında benzerlik olduğu gözlenmiştir (149). Bazı bakteriyel DNA’lar (örneğin: *Streptococcus thermophilus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Bifidobacterium longum*) anne sütü ve bebeklerin dışkı örneklerinde ortak olarak tanımlanmıştır (180). İlginç bir şekilde laktasyon sırasında maternal bağırsak lenfoid doku hücrelerinin lenfatik ve vasküler dolaşım yoluyla memeye geçerek, annenin bağırsak ve meme derisi mikrobiyotasının emzirilen yenidoğana aktarılmasını kolaylaştırdığı belirtilmiştir (178, 181). Bu sonuçlar, anne sütü aracılığıyla bebeğin bağırsağına floranın dikey transferini göstermektedir (160).

Kültüre dayalı teknikler, formül mamayla beslenen bebeklerde emzirilen bebeklere kıyasla daha çeşitli mikrobiyomlar tanımlamıştır (182). Kültürden bağımsız çalışmalar bu gözlemi desteklemiştir (117, 183). Formül mama ile beslenen bebekler, farklı kolonizasyon paternlerine ve gelişen bağırsak mikrobiyotaları üzerinde immünomodülatör etkilere yol açan farklı bir dizi karbonhidrat, bakteri ve besin maddelerine maruz kalırlar. Formül mamalara eklenen oligosakkaritler yapısal olarak anne sütünde bulunanlardan farklıdır ve bu nedenle bağırsak üzerindeki bazı etkileri taklit etme olasılığı düşüktür (177).

Anne sütüyle beslenen bebeklerin florasında *Bifidobacterium* türlerinin egemen olduğu ve *Enterobacteria* türlerinin azaldığı gösterilmiştir (113). Formül mama ile beslenen bebeklerin florasının süt bazlı veya soya bazlı formül bileşiminden bağımsız olarak *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Lactobacillus* türlerini içerdiği görülmüştür (160, 161, 184-188). Formül mamayla beslenen bebekler, anne sütüyle beslenen bebeklere kıyasla daha yüksek oranda anaerob ve fakültatif anaerob içeren floraya sahip olma eğilimindedir (182, 189, 190). İlginç bir şekilde anne sütüyle beslenen bebeklerde nispeten düşük miktarlarda formül mama takviyesinin, floranın mama ile beslenen bebeğe doğru kaymasına neden olduğu görülmüştür. (114, 169).

2.6.1.3. Antibiyotik Kullanımı

Çocukluk çağında antibiyotik kullanımı dünyanın birçok yerinde yaygındır, ancak mikrobiyotanın maturasyonu ve insan sağlığı üzerindeki etkileri henüz yeterince aydınlatılamamıştır (191). Çocuklarda antibiyotik maruziyeti, artan obezite riski (192), diyabet (193), enflamatuar bağırsak hastalığı (194), astım (195) ve alerji (196) ile ilişkilendirilmiştir. Yetişkinlerde antibiyotik maruziyetinin bağırsak disbiyozisi üzerindeki etkileri iyi tanımlanmış olmasına rağmen, erken çocukluk döneminde mikrobiyota gelişimi üzerindeki etkilerine daha az dikkat çekilmiştir (191).

Antibiyotikler spesifik olarak patojen bakterilere saldırmak için tasarlanmıştır, ancak sıklıkla fırsatçı patojenlerin aşırı çoğalmasına neden olarak bağırsak florasını doğrudan bozar (191, 193, 197). Antibiyotik tedavisi sıklıkla insan bağırsak mikrobiyotasını değiştirir ve *C.difficile* gibi fırsatçıların çoğalmasını kolaylaştırır. Bağırsak mikroflorasının antibiyotik kaynaklı değişimi, karbonhidratların ve primer safra asitlerinin mikrobiyal metabolizmasının azalmasına yol açarak ozmotik veya sekretuar ishallere neden olur (198).

Aynı zamanda gastrointestinal sistemdeki mikrobiyal dengenin değişmesi sıklıkla, bağırsak mukozasını kaplayan enterositlerin apoptozuna yol açar. İntestinal bariyerin bozulmasıyla intestinal hücrelerin lümenindeki sıvıyı reabsorpsiyon kabiliyeti azalır ve sonunda ishal gelişir (199). Antibiyotik ilişkili ishal, yenidoğanlarda antibiyotiklerin terapötik kullanımından kaynaklanan bağırsak mikrobiyotasının bozulmasının en sık görülen sonucudur (200). *C. difficile*, *C. perfringens* ve *S. aureus* antibiyotik ilişkili ishali olan hastaların dışkıсында daha sık görülen bakteri türleridir (152).

Perinatal dönemde geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının, gastrointestinal sistemin gelişiminde yer alan genlerin ekspresyonunu değiştirdiği ve bağırsak bariyerinin mimarisi ve işlevselliği üzerinde büyük sonuçları olduğu gösterilmiştir (201). Ayrıca doğumdan önceki günlerde gebe kadınlara verilen antibiyotiklerin, preterm yenidoğan mikrobiyotasının bileşimini önemli ölçüde değiştirdiği ve ilk dışkı örneklerinde bağırsak mikrobiyal çeşitliliğini azalttığı gösterilmiştir (202).

Sezaryenle doğan bebeklerde ve prematürlerde antibiyotik kullanımı, vajinal yolla doğan bebeklere göre daha yaygındır (131, 203). Prenatal, perinatal ve postnatal dönemlerde antibiyotik maruziyetinin mikrobiyal maturasyonda doğumdan sonra 6 ila 12 aylık bir gecikmeye neden olacağı varsayılmaktadır (204). Erken bebeklik döneminde bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkileyen faktörler üzerine yapılan bir çalışmada, antibiyotik kullanımı *Bifidobacteria* ve *Bacteroides* türlerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir (131). Bu çalışmada en yüksek oranda *Bifidobacteria* türleri ve en düşük oranda *C. difficile* ve *E. coli* ile karakterize edilen ‘‘en faydalı flora’’nın evde vajinal yolla doğan ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada 5-7 gün ampirik antibiyotik tedavisi alan prematüre bebeklerde, daha kısa süreli antibiyotik tedavisi alan veya antibiyotik almayan bebeklere kıyasla daha yüksek oranda *Enterobacter* kolonizasyonu ve daha düşük bakteriyel çeşitlilik görülmüştür (205). Küçük boylamsal çalışmalar, NEK gelişen bebeklerin mikrobiyota incelemelerinde *Enterobacter* türleri ve *Proteobakteriler* ile kolonizasyonun arttığına işaret etmektedir (206, 207).

Bazı çalışmalar mikrobiyom çeşitliliğinin, postnatal ilk günlerde kullanılan kısa süreli antibiyotik tedavisinden sonra zaman içinde iyileştiğini göstermektedir. Daha kısa süreli antibiyotik tedavileri (1-3 gün ve 5-7 gün arasında) ile birkaç hafta boyunca floranın baskılandığı ve değiştiği, iyileşmenin postnatal üçüncü haftadan sonra gerçekleştiği görülmüştür (205, 208).

Ampisilin, siprofloksasin, levofloksasin, vankomisin ve imipenem kombinasyonu dahil olmak üzere çoklu antibiyotik rejimlerinin, sitokrom P450 aktivitesini baskılayarak bağırsak florasında önemli değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Özellikle bu antibiyotiklerin, CYP3a11 ekspresyonunu ve karaciğer hücrelerinin aktivitesini baskıladığı; ilaç metabolizmasını farmakokinetik etkileri ile belirgin şekilde etkilediği gösterilmiştir (209).

Son çalışmalar geniş spektrumlu antibiyotiklerin, mikrobiyotayı önceden düşünülenenden çok daha uzun süre bozabileceğini göstermiştir. Ayrıca uzun süreli tedavilere bağlı tekrarlanan antibiyotik kullanımları eksik iyileşmeye ve bağırsak mikrobiyotasının sürekli modifikasyonuna yol açabilir (209). Tek bir klindamisin dozunun, normal koşullarda mikrobiyal topluluğa düşük katkıda bulunan bakteri türlerinin bir dizi dramatik genişlemesine paralel olarak bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, klinik iyileşmeden sonraki mikrobiyota yüksek oranda kısıtlı kalmıştır ve *C. difficile* enfeksiyonuna yatkınlık göstermiştir (210).

Antibiyotik tedavilerinin neden olduğu değişiklikler, konağın immün homeostazında bozulmaya ve hastalıklara karşı daha fazla duyarlılığa neden olabilir (211). İnsan mikrobiyotası, bazı antibiyotiklerin kısa süreli maruziyetine karşı belirli bir derecede esneklik göstermesine rağmen antibiyotiklere verilen yanıtlar, bireyler arası bağırsak florasının bileşimindeki değişkenlik ve aynı antibiyotiğin daha önce kullanılması nedeniyle farklılıklar gösterebilir (212).

Yenidoğanlarda en sık antibiyotik maruziyeti kaynağının intrapartum antimikrobiyal profilaksisi (İAP) olduğu düşünülmektedir (213). Erken başlangıçlı yenidoğan sepsis riskini azaltmak için doğum sırasında Grup B Streptokok pozitif olan annelere İAP (penisilin, ampisilin veya ampisilin ile birlikte eritromisin) uygulanır (214, 215). Anne adayının İAP'ye maruz kalması, bebeklerde erken gastrointestinal mikrobiyal kompozisyonu etkiler.

Vajinal yolla zamanında doğan bebeklerde yapılan iki kohort çalışmasında, anneleri İAP'ye maruz kalan bebeklerin İAP'ye maruz kalmayan bebeklerle karşılaştırıldığında dışkı örneklerinde çeşitliliğinin azaldığı bildirilmiştir (216, 217). 16s rRNA gen amplicon dizileme kullanılarak yapılan iki farklı çalışmada İAP'ye maruz kalan bebeklerde mutlak *Aktinobacteri* ve *Bacteroides* seviyeleri daha düşük bulunmuştur (215, 216). İAP'ye maruz kalan bebeklerde *Bifidobakteri* seviyelerinin anlamlı derecede daha düşük; buna karşılık Firmicutes ve Proteobakteri sayılarının arttığı görülmüştür (215-217).

Özetle perinatal antibiyotik kullanımı yenidoğanlarda anormal bağırsak kolonizasyonunun ana nedenlerinden biridir ve bebeklerde *Enterobacter* ve *Clostridia* türlerini arttırarak, *Bifidobacter* ve *Lactobacilli* azaltarak ve bakteriyel çeşitliliği azaltarak bağırsak mikrobiyotasını etkiler (218).

2.6.2. Disbiyozis

Bağırsak mikrobiyotası, immüno-metabolik fonksiyonları olan bir organ olarak düşünülebilir. Sağlıklı kolonizasyonun (eubiosis) önemli immunolojik etkileri vardır. Th-1, Th-2, Th-17 ve T-reg hücre yanıtlarını dengeleyerek hem atopik hem de otoimmün hastalıklara karşı daha az yatkınlığa neden olur. Patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden bakteriyosinleri salgılar, trofik ve antienflamatuar özelliklere sahip kısa zincirli yağ asitlerini üretir, sıkı bağlantı proteinlerini uyarır ve mukozal hücre büyümesini modüle eder (219). Bu etkilerden temel olarak sorumlu olan bakteriler *Bifidobakteriler*, *Lactobaciller* ve *Bacteroides*'tir (220).

Disbiyozis anormal kolonizasyon veya vücudun belirli bir bölümünde yaşayan mikroorganizmaların dengesizliğidir (9). Anormal mikrobiyal maruziyet, diyetteki değişiklikler, antibiyotik kullanımı ve diğer ilaçlar, konağın genetiği disbiyoziste rol oynayan faktörlerdir. Maternal mikrobiyotanın fetüse ve yenidoğana geçişi eubiosis gelişiminde önemli bir mekanizma olduğundan, bu fizyolojik süreci bozan her faktör disbiyozis olarak tanımlanan anormal bağırsak kolonizasyonundan sorumlu olabilir (221).

Yenidoğan mikrobiyotası, sağlıklı term bebeklerde ve özellikle dinamik doğası göz önüne alındığında prematüre bebeklerde oldukça hassas ve kolayca etkilenebilir. Bu nedenle mikrobiyom, konağın kısa ve uzun vadeli sağlığını önemli ölçüde etkileyebilecek dış etkilere son derece duyarlıdır (9).

Erken doğmuş bebeklerin mikrobiyotalarında genellikle mikrobiyal çeşitliliğin azaldığı ve patojenik bakterilerin (örn. *Klebsiella pneumoniae* ve *Clostridium difficile*) sıklığının arttığı görülür (222). Ayrıca term bebeklerle karşılaştırıldığında preterm mikrobiyotada, *Enterobacteriaceae* ve *Enterococcaceae* gibi fakültatif anaeroblar ve *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Atopobium* gibi anaeroblar baskındır (119). Bu anormal kolonizasyon genellikle sezaryen doğum (119), geniş spektrumlu antibiyotiklere maruz kalma (223), enteral beslenmede gecikmeler, formüla ile besleme (224) nedeniyle maternal mikrobiyotaya maruz kalmama veya sınırlı maruziyet ve yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki bakteriyel floranın horizontal geçişi ile ilişkilendirilmiştir (225).

Preterm bebeklerdeki bu anormal kolonizasyonun beslenme intoleransı, nekrotizan enterokolit, geç başlangıçlı sepsis ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde olumsuz nörolojik sonuçlar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (226, 227).

Yenidoğanlarda disbiyozis ile ilişkilendirilen hastalıklardan biri NEK'tir. Preterm bebeklerde NEK gelişimi multifaktöriyel, yıkıcı ve henüz tam olarak anlaşılammış bir hastalık sürecidir. Patogeneizde arka planda genetik bir yatkınlık, olgunlaşmamış bağırsak bariyeri ve NEK gelişimine elverişli bir mikrobiyal ortamın etkileşimleri kritik rol oynar (228-230). Bakteriyel fermantasyon sonucu gelişen submukozal havayı temsil eden pnömotozis intestinalis bulgusu ve etkilenen yenidoğanlarda bakteriyemi ve endotoksinemin ortak bulguları patogeneizde mikrobiyal rolü destekler (230). Yapılan bir çalışmada NEK'li bebeklerin bağırsak mikrobiyotasında daha az çeşitlilikle birlikte *Gammaproteobacteria* türlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca NEK'li bebeklerin daha öncesinde ortalama gün sayısı olarak daha fazla antibiyotik tedavisi aldığı görülürken, NEK'in yaygın ampirik antibiyotik kullanımıyla ilişkili olabileceği üzerinde durulmuştur (231). Gelişmekte olan insan bağırsak mikrobiyomunun metagenomik analizleriyle birlikte NEK'li prematüre bebeklerden elde edilen veriler bağırsak mikrobiyotasının disbiyotik olduğunu göstermektedir (172).

Geç başlangıçlı sepsis, yenidoğanlarda (özellikle prematürelde) bağışıklık sisteminin olgunlaşmamış olması nedeniyle önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (232). Geç başlangıçlı sepsis ile prematüre bebeklerin mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada nedensel bir ilişki kesin olmamakla beraber; sepsisli yenidoğanların sepsis öncesi dışkılarında benzer bakterilerin görüldüğü, anormal mikrobiyal kolonizasyonun mukozal bariyerin bozulması ve luminal içeriğin sekonder translokasyonu yoluyla geç başlangıçlı sepsis riskini artırabileceği savunulmuştur (233).

Bozulmuş bağırsak mikrobiyotasının infantil koliğe yatkınlıkta da rol oynadığı düşünülmektedir. Koliğ bebeklerin bağırsak florasında *Proteobacteria* baskınlığı görülürken (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Vibrio*, *Yersinia* ve *Pseudomonas* türlerinin baskınlığı); *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* ve *Bacteroides* türlerinde azalma ile karakterizedir (234, 235)

Erken bağırsak disbiyozisinin bir bebeğin immünolojik, hormonal ve metabolik gelişimi üzerinde uzun süreli olumsuz etkileri olabilir. Yaşamın erken dönemlerinde bağırsak “eubiyozisi”nin yeniden kurulması erken disbiyozisin olumsuz uzun vadeli etkilerini azaltması açısından büyük önem taşır. Yapılan araştırmalar ve neonatalojide artan tecrübeler sayesinde probiyotik türlerinin antibiyotik ilişkili ishali, prematüre bebeklerde nekrotizan enterokolit ve/veya egzamayı önlemede etkili olabileceğini düşündürmektedir.

2.7. Probiyotikler

2.7.1. Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihesi

Probiyotikler, yeterli miktarlarda alındığında konağa yarar sağlayan, gastrointestinal sistemde yeterli sayıda replike ve kolonize olabilen patojenik olmayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanır (236). Yunancadan türetilen, ‘‘Pro’’ ve ‘‘biota’’ kelimelerinin birleşmesiyle oluşan bu terim ‘‘yaşam için’’ anlamına gelir. Patojenlerin, patojen olmayan mikroorganizmalar kullanılarak kontrol altına alınmasını sağladığından probiyotiklere ‘‘biyoterapötik ajanlar, bakteriyoterapi’’ de denilmektedir (237).

Probiyotik kavramı ilk olarak 1908'de Nobel ödüllü mikrobiyolog Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Bulgaristan'ın belirli bir bölümünde yaşayan kişilerin daha uzun ömürlü olduklarını gözlemlemiş ve bu durumu düzenli olarak tükettikleri fermente bir süt ürününe atfetmiştir (238). Aynı dönemde yaşayan çocuk doktoru olan Fransız Henry Tissier

ishalli çocukların dışkılarında tuhaf, “Y” şeklinde karakterize edilen bakterilerin daha düşük sayıda bulunduğunu gözlemlemiştir. Bu “bifid” bakterilerin sağlıklı çocukların dışkılarında bol miktarda bulunduğunu belirterek, bu bakterilerin sağlıklı bağırsak florasının yenilenmesine yardımcı olmak için ishaller hastalara uygulanabileceğini öne sürmüştür (239).

1965 yılında Lilly ve Stillwell, bir organizma tarafından salgılanan ve diğerinin büyümesini uyarıcı maddeleri tanımlamak için “probiyotik” terimini kullandılar (240). Bugün kullandığımız anlamda probiyotik tanımı 1989’de Fuller tarafından, “konak hayvanın mikrobiyal dengesini düzenleyerek yararlı etkiler oluşturan canlı mikrobiyal gıda maddeleri” şeklinde yapılmıştır (241). O tarihten itibaren birçok hastalığın tedavisi veya önlenmesi amacıyla probiyotikler üzerinde çalışılmış ve probiyotikler pek çok araştırmanın ilgi odağı olmuştur.

2.7.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

En yaygın kullanılan probiyotikler *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus* ailesidir (242). Fermentatif ve fakültatif anaerop mikroorganizmalardır ve laktik asit üretirler. Gastrointestinal sisteme hakim mikroorganizmalardır. Bununla birlikte, *Escherichia*, *Enterococcus* ve *Saccharomyces* gibi diğer cinsler de probiyotik olarak pazarlanmaktadır (243, 244), ancak bu organizmaların probiyotik olarak güvenli kullanımına ilişkin endişeler bulunmaktadır (245). *Saccharomyces boulardii* gibi bazı maya türleri de probiyotik olarak kullanılmaktadır (246). Probiyotik olarak yaygın kullanılan bazı organizmalar **Tablo 2.2**’de gösterilmektedir (237).

Mevcut kanıtlar probiyotik etkilerin suşa özgü olduğunu göstermektedir; bu nedenle bir suşa atfedilen yararlı etkinin, aynı türe ait olsa bile başka bir suş tarafından sağlanacağı varsayılmaz (247). Probiyotikleri kullanırken bu durum unutulmamalıdır.

Probiyotik olarak en yaygın kullanılan ve üzerinde sık çalışılan organizmalardan biri de *Lactobacillus rhamnosus* GG (*Lactobacillus* GG, LGG) dir. Sherwood Gorbach ve Barry Goldin tarafından 1985 yılında sağlıklı insandan izole edilmiştir ve adındaki “GG” ekini buradan alır (248). Yapılan birçok insan çalışmasında LGG’nin güvenli olduğu ve patojen olmadığı gösterilmiştir. LGG, ağızdan alındıktan sonra yedi gün dışkıda ve 28 gün boyunca intestinal mukoza biyopsi örneklerinden kültürlenebilir (249, 250). LGG verilen

yenidoğanlarda, 1500 gr üzeri doğum ağırlığı olan bebeklerde kolonizasyon meydana gelme olasılığı daha yüksektir (246).

LGG, sağlıklı bebeklerde iyi tolere edebilir ve florada bifidobakteri sayısını artırır. İlk 1 ayda bebeklere ve annelerine *LGG* verildiğinde ilk iki yaşta floradaki dominant bakterinin plasebo grubuna göre anlamlı olarak bifidobakteriler olduğu gösterilmiştir (251). Gebelik sırasında *LGG* alan kadınların bebeklerinde yapılan bir çalışmada çoğu bebeğin *LGG* ile kolonize olduğu, bazılarının doğumdan sonra 24 ay boyunca kolonize olduğu görülmüştür (252).

Tablo 2.2: Probiyotik olarak sık kullanılan mikroorganizmalar

Lactobacillus suşları	Bifidobacterium suşları
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. johnsonii</i>	
<i>L. lactis</i>	
<i>L. paracasei</i>	
<i>L. plantarum</i>	
<i>L. reuteri</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	
<i>L. salivarius</i>	
	Mayalar
	<i>Saccharomyces boulardii</i>
Streptococcus suşları	
<i>S. thermophilus</i>	

2.7.3. Probiyotiklerde Aranılan Özellikler

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalarda aranılan özellikler şunlardır (237, 253, 254):

- İnsan kaynaklı olmalı, doğal olarak insan kolon florasında bulunmalı
- Güvenilir olmalı, yan etki oluşturmamalı
- Patojen ve toksik olmamalı
- Stabil olmalı; mide asiti ve safra asitleri gibi olumsuz durumlara karşı dirençli olmalı
- Gastrointestinal sistem epiteline tutunarak geçici olarak kolonize olabilmeli
- Doğal floraya adapte olabilmeli
- Yüksek oranda canlı mikroorganizma içermeli (10^8 CFU/ml-g)
- Taşıyıcı gıdada raf ömrü boyunca canlı kalabilmeli (10^8 CFU/ml-g)
- Antimikrobiyal ürünler salgılayabilmeli
- Antibiyotiklere dirençli olmalı; antibiyotiğe bağlı ishalde bağırsak florasını düzeltmek amacıyla kullanılabilirdiğinden bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- Konağa belirli bir fayda sağlamalı

2.7.4. Probiyotiklerin etki mekanizmaları

Probiyotikler insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak etkilemektedir. Probiyotiklerin bu etkileri üç ana kategoride incelenebilir (255):

- i) Patojenleri inhibe etmek veya engellemek.
- ii) Çeşitli sinyal yollarını modüle ederek (mukus ve defensin üretiminin artırılması, “tight junction”ların güçlendirilmesi, apoptozun önlenmesi) bağırsak epitel bariyerinin işlevini arttırmak.
- iii) Hem lokal hem de sistemik etkilerle konağın immün sistemini düzenlemek.

Probiyotikler ürettikleri organik asitler sayesinde bağırsak pH'ını düşürerek ve antimikrobiyal maddeler salgılayarak (bakteriyosin, defensin, hidrojen peroksit, nitrik oksit gibi) patojenlerin çoğalmasını engeller (256). Patojenler ile bağırsak epitel hücrelerine tutunmada reseptör düzeyinde yarışarak patojenlerin tutunmasını engeller. Bu rekabet bağırsak lümeninde bulunan besinler için de geçerlidir, böylece patojenlerin gelişimi engellenir (257). Aynı zamanda ekolojik nişleri kaplayarak patojen kolonizasyonlarına direnç gösterir. Yapılan bir çalışmada kronik gastrit tedavisinde antibiyotiğe ek olarak probiyotik kullanımının, *Helicobacter Pylori*'nin mide epitelinde kolonizasyonunu önleyerek inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (258).

Patojen mikroorganizmaların ürettiği toksinler ve onlara yanıt olarak organizmanın ürettiği proinflamatuvar sitokinler epitel bariyerine hasar vererek geçirgenliğin artmasına neden olur. Böylece patojenler ve zararlı metabolitler epitel bariyerden geçerek kana karışır (259, 260). Probiyotikler çeşitli sinyal yollarını harekete geçirerek apoptozun önlenmesi, defensin üretimi, epitel hücreleri arasındaki “tight junction”ların güçlendirilmesi, mukus salgısının artırılması gibi mekanizmaları tetikleyerek epitel hücrelerin bariyer işlevini güçlendirir (255, 261).

Probiyotikler, hücre yapı bileşenlerini kullanarak ya da ürettikleri çeşitli moleküller sayesinde bağırsakla doğrudan etkileşime girer ve immün sistemi düzenler (262, 263). Peptidoglikan, lipopolisakkarit, teikoik asit, lipoteikoik asit, bakteriyal DNA, ekzopolisakkarit ve flagella gibi “Mikrop İlişkili Moleküler Yapılar (MAMP)” immün sistemde görevli reseptörler (desen tanıma reseptörü, PRR) tarafından tanınarak doğal ve kazanılmış immün sistemi harekete geçirirler (261).

Probiyotiklerin konağın immün yanıtını üzerine etkisi şu şekilde özetlenebilir (237):

- IL-10, TGF- β , PGE2 ekspresyonunu artırır.
- Monosit, makrofaj, polimorfonükleer hücrelerin fagositik aktivitesini artırır.
- Salgısal IgA yapımını artırır.
- TNF ve IFN- γ ekspresyonunu azaltır.
- Regülatuar T hücrelerini aktive eder.

- NK hücre aktivasyonunu artırır.
- Dendritik hücre fenotip ve işlevlerini düzenler.
- NF-kB ve AP-1 yolaklarını düzenler.
- PPAR- γ 'yı uyarır.
- Apoptozu düzenler.

Bu alanda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen probiyotiklerin immün sistem üzerindeki etkileri konusunda hala çözülememiş moleküler mekanizmalar mevcuttur.

2.7.5. Probiyotiklerin Kullanım Alanları

Probiyotik kullanımının birçok yararının olduğu bilinmektedir, hatta bazı hastalıklarda tedavi edici veya önleyici olarak kullanılmaktadır. Probiyotiklerin sağlık üzerine etkilerini belirlemek için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda bazı hastalıklarda / klinik durumlarda probiyotiklerin kesin olumlu etkileri gösterilmişken, bazılarında ise bu etkiler belirlenememiştir (264).

Enterik enfeksiyonların ve post-antibiyotik sendromların tedavisi ve önlenmesi probiyotiklerin yararlı etkilerine en iyi kanıt oluşturan durumlardan biridir. Birkaç meta-analiz, bazı laktobasil suşlarının akut enfeksiyöz ishalde etkin olduğunu ve antibiyotik ilişkili ishali önlediğini göstermiştir (265). Bazı laktobasiller, *C. difficile* ile ilişkili ishalin tekrarını azaltabilir (266) ve preterm yenidoğanlarda nekrotizan enterokoliti önleyebilir (267). İnflamatuar bağırsak hastalığının (İBH) (268) önlenmesi ve tedavisinde, kolorektal kanserin önlenmesinde (269) ve irritabl bağırsak sendromunun (İBS) tedavisinde (270) probiyotikler umut verici olmuştur. İBH'ler içerisinde yer alan ülseratif kolit, Crohn ve poşit tedavisinde ve hastalık semptomlarının hafifletilmesinde probiyotik kullanımının etkili olduğu yapılan klinik çalışmalarda gösterilmiştir (271-273). En yaygın fonksiyonel sindirim sistemi hastalığı olan İBS'de ise probiyotik kullanımı ile semptomların azaldığı çalışmalarla gösterilmiş olmakla beraber bu etkiye sebep olan mekanizmalar tamamen aydınlatılamamıştır (274).

Probiyotik kullanımının, kolon kanseri riskini ve kolon tümörlerini azaltıcı etki gösterdiği çalışmalarla gösterilmiştir (274, 275). Bu etkinin probiyotiklerin ürettiği anti-kanserojenik ve anti-mutajenik maddeler sayesinde olduğu düşünülmektedir. Bağırsakta oluşan kanserojen maddelerin etkisiz hale getirilmesi, mikroflorayı değiştirerek kanserojen bileşik oluşumuna neden olan mikroorganizmaların azaltılması ve tümör hücrelerinin gelişimini engelleyen bileşenlerin üretilmesi antikanserojen mekanizma olarak öne sürülmektedir. Ayrıca immün cevabın probiyotikler tarafından düzenlenmesi de olası bir diğer mekanizmadır (275, 276).

Probiyotiklerin bağırsak bariyer fonksiyonunu koruyarak ve immün yanıtı düzenleyerek alerjik hastalıklarda semptomların hafiflemesi üzerine olumlu etkiler gösterdiği klinik çalışmalarla gösterilmiştir (277, 278). Atopik çocuklara standart alerji tedavisine ek olarak *Lactobacillus rhamnosus GG* ve *Bifidobacterium lactis Bb-12* içeren mama verildiğinde alerjik semptom ve bulguların daha kolay kontrol altına alındığı görülmüştür. Probiyotikler yalnız tedavide değil alerjik semptom ve bulguların önlenmesinde de yararlıdır (237). Yapılan başka bir çalışmada gebeler ve yenidoğan bebeklere *LGG* verildiğinde plasebo grubuna göre atopik egzema, alerjik rinit ve astım sıklığında azalma tespit edilmiştir (279).

Probiyotikler infantil kolik tedavisinde de rol oynar, bu etki sistematik bir derlemede değerlendirilmiştir (280). Bu çalışmadan elde edilen veriler, *L. reuteri* alan emzirilen bebeklerin, kontrol grubuna kıyasla ağlama-huzursuzluk süresinde önemli bir azalmaya sahip olduğu gösterilmiştir. Bu veriler 345 kolik bebekle yapılan, *L. reuteri* ve plaseboyu karşılaştıran çift kör başka bir meta-analizde de doğrulanmıştır. Toplam 21 günlük kullanımdan sonra probiyotik alan grupta, plasebo grubuna kıyasla ağlama ve / veya huzursuzluk süresinde ortalama 25 dakikalık bir azalma görülmüştür (281).

Probiyotikler ayrıca laktoz intoleransı, gastrit, hipertansiyon, ağız sağlığı, obezite, diyabet, yüksek kolesterol, ürogenital hastalıklar ve kadınlarda bakteriyel vajinozun önlenmesi ve tedavisi, karaciğer hastalıkları gibi birçok alanda olumlu etkiler göstermesiyle umut vadetmektedir (256, 274, 277, 278).

Tablo 2.3'te probiyotiklerin kanıta dayalı tıp kriterlerine göre gastroenterolojide kullanımına yönelik öneriler özetlenmektedir (282).

Tablo 2.3: Kanıta Dayalı Tıp Uygulamalarında Probiyotikler

<p>Derece A öneri (kanıt düzeyi 1A)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Çocuklarda akut enfeksiyöz ishal tedavisi • Antibiyotik ilişkili ishalin önlenmesi • Çocuklarda hastane ve toplum kaynaklı ishalin önlenmesi • Laktoz emilim bozukluğunun tedavisi
<p>Derece A öneri (kanıt düzeyi 1B)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Poşitin önlenmesi ve remisyonun sürdürülmesi • Postoperatif enfeksiyonların önlenmesi • Pediyatrik atopik hastalıkların önlenmesi ve tedavisi
<p>Derece B öneri (kanıt düzeyi 2B)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Turist ishalinin önlenmesi • Şiddetli akut pankreatit ile ilişkili sepsisin önlenmesi • Ülseratif kolit remisyonunun sürdürülmesi • Kan kolesterolünün düşürülmesi.

2.7.6. Yenidoğanlarda Probiyotik Kullanımı

Erken bağırsak disbiozisi ile çeşitli kronik hastalıkların gelişme riskinin ilişkili olması nedeniyle bağırsak mikrobiyotasının yönetimi veya probiyotik takviyesi ile disbiyozun düzeltilmesi kavramı neonatolojide umut verici bir araştırma alanıdır.

Probiyotikler uzun süreli antibiyotik tedavisi alan, enteral beslenmeye geçişi geciken ve anne sütünden yoksun kalmış prematüre bebeklerde olduğu gibi yenidoğanlarda bağırsak flora kompozisyonunu artırabilir. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri gibi bağırsak kommensallerinin kaybını önleyebilir. Bu da patojenik mikrofloranın çoğalmasını ve anormal bağırsak kolonizasyonunu engelleyebilir. Böylece probiyotikler, patojenlerin bağırsaklardan translokasyonunu azaltmaya, nihayetinde NEK ve nozokomiyal enfeksiyonların gelişmesini engellemeye yardımcı olabilir (283).

Yenidoğanlarda en yaygın olarak kullanılan ve incelenen probiyotikler arasında *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Bifidobacterium lactis* ve *Saccharomyces boulardii* bulunur. Özel bir *Lactobacillus* türü olan *L. Reuteri* ise infantil kolik tedavisinde kullanılmıştır (284).

Yenidoğanlarda probiyotik kullanımının yararlı etkilerine dair en güçlü kanıtlar, normal bağırsak florası kazanımını sağlayarak özellikle NEK gibi disbiyotik durumlara karşı gösterilmiştir. Bu konuyla ilgili yapılan birkaç klinik çalışma ve meta-analiz, NEK'i önlemek için probiyotik kullanımının genel olarak güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir (14). Toplam 24 çalışmayı içeren 2014 "Cochrane" sistematik incelemesinde, 20 çalışmada evre-2 NEK'in azaldığı (RR:0.43), 17 çalışmada mortalitenin azaldığı (RR:0.65), tam enteral beslenmeye geçiş ve hastanede yatış süresinde önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir. Genel olarak sepsis gelişimi veya kilo alımı üzerinde anlamlı bir etki gösterilmemiştir. Bu önemli önleyici etkiler istatistiksel olarak hem tek başına spesifik *Lactobacilli* suşları için hem de *Lactobacilli* ve *Bifidobacteria* / *Saccharomyces* karışımları için kanıtlanmıştır, ancak tek başına *Bifidobacteria* veya *Saccharomyces* için kanıtlanmamıştır (285).

Probiyotik kullanımının bir diğer olumlu sonuçları özellikle preterm bebeklerde tam enteral beslenmeye daha kısa bir sürede geçişin sağlanması, bu bebeklerin hastanede kalma süresinin kısaltılması ve tüm nedenlere bağlı mortalitenin azalmasıdır (286). Son yıllarda yapılan sistematik derleme ve bir meta-analiz çalışması, probiyotik takviyesinin 37. gebelik haftasından küçük veya doğum ağırlığı 2500 gr altında olan pretermelerde geç başlangıçlı sepsis riskini azaltabileceği sonucuna varmıştır. Sonuçlar sadece gebelik haftası 32 haftanın altında veya doğum ağırlığı 1500 gr altında olan bebekleri içeren çalışmalarda da anlamlı görülmüştür (287, 288). Mevcut kanıtlar ayrıca probiyotiklerin Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde preterm bebeklerde *Candida* kolonizasyonu riskini azalttığını da göstermektedir (288)

Probiyotiklerin prematürite retinopatisi (ROP) patogenezi üzerindeki etkisini değerlendiren 2017 yılında yapılan bir meta-analiz çalışmasında, probiyotik takviyesinin ROP gelişme riski üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir (289). Benzer şekilde, probiyotiklerin bronkopulmoner displazi (BPD) riskini değiştirmedeki olası rolünü değerlendiren başka bir meta-analizde de anlamlı bir etki gösterilmemiştir (290). Son olarak,

probiyotik uygulamasının intraventriküler kanamanın (İVK) önlenmesinde yararlı olmadığı görülmüştür (291).

Probiyotik olarak kullanılan *laktobasiller*, genel olarak güvenli kabul edilir ve tolerans genellikle iyidir. İki İtalyan ünitesinde 2003-2008 yılları arası *LGG* alan çok düşük doğum ağırlıklı bebek kohortu retrospektif olarak incelenmiş, anne sütü / mama ile birlikte ortalama 23.1 doz *LGG* alan bu grupta yan etki veya intolerans saptanmamıştır (19). Geç sepsis ve NEK açısından güvenli bulunmuş ve hiçbir bebekte *LGG* sepsisi görülmemiştir (292). “Cochrane” analizine alınan randomize kontrollü çalışmalarda da *LGG* ilişkili sepsis yada önemli bir yan etki bildirilmemiştir.

Probiyotik takviyesi, özellikle bağırsak bütünlüğünün riskli olması nedeniyle probiyotik translokasyonu ve sepsis olasılığının daha yüksek olduğu prematüre bebeklerde yine de tamamen risksiz değildir. Lin ve arkadaşlarının çalışmasında 750 gr’ın altındaki bebeklerde artmış sepsis oranı nedeniyle özellikle 1000 gr altındaki bebeklerde probiyotik kullanımı konusunda ciddi tereddütler bulunmaktadır (293). Literatürde probiyotik ilişkili sepsis vakaları bildirilmiştir (294). Bildirilen bu hastalar kısa barsak sendromu, geçirilmiş Gİ veya kardiyak cerrahi öyküsü, kromozomal anomali, prematürite ve immün yetmezlik gibi altta yatan risk faktörleri olan hastalardır. Bu nedenle güvenilir olmayabileceği düşüncesiyle bakteriyel translokasyon olasılığını arttıran durumlarda (NEK, sepsis, asfiksi gibi) probiyotikler kesilmelidir (295).

Son yıllarda yatay gen transferi yoluyla antibiyotik direncinin gelişimi ve iletimi (296), abartılı bir pro-inflamatuar yanıt olasılığı (297), yüksek kaliteli-güvenli ve etkili ürünlere erişimdeki güçlükler konusunda endişeler de gündeme gelmiştir.

Öte yandan, seçilen probiyotik türü ve doz rejimleri ile ilgili klinik çalışmalarda belirgin heterojenlik nedeniyle kullanılacak probiyotik suşu, dozlama ve süresi hakkında hala yeterli veri yoktur. Bu nedenle, doğum öncesi kullanılan steroidlerin, beslenme rejimlerinin etkisini ve aşırı düşük doğum ağırlığına (ELBW) sahip bebekler gibi yüksek riskli popülasyonlardaki spesifik probiyotiklerin etkisini daha iyi anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca anne sütünün simbiyotik özellikleri göz önüne alındığında, probiyotik kullanımının anne sütü ile beslenen bebeklerde de önerilip önerilmeyeceği veya sadece formülle beslenen bebeklere verilip verilmeyeceğini anlamak çok önemli olacaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Neonatoloji Bilim Dalı'nda Şubat 2020-Eylül 2020 tarihleri arasında yapılmıştır.

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 20/02/2020 tarihli KA-19134 No'lu araştırma onayı alınmıştır.

Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje No: 18768).

Çalışma "ClinicalTrials.gov" kayıt sistemine kaydedilmiştir (NCT No: 04620629).

Hastanemizde Şubat 2020 - Eylül 2020 tarihleri arasında doğan, Bölüm 82 Kadın Doğum Servisinde anne yanında izlenen bebekler ve/veya yenidoğan yoğun bakım ünitemizde takip edilmiş olan geç prematüre (gebeliğin 34. haftasından sonra doğan bebekler) ve zamanında doğmuş olan bebekler çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadan dışlama kriterleri hipoksik iskemik ensefalopati, kromozomal anomali, major konjenital anomali, gastrointestinal sistem anomalisi, bilinen herhangi bir immün yetmezlik varlığı, NEK (evre 2 veya üzeri), intestinal cerrahi geçirme, kısa bağırsak sendromu, immunsupresif tedavi alma ve yaşamın ilk üç gününde enteral yoldan beslenememe olarak belirlendi. Çalışmanın herhangi bir döneminde ayrılmak isteyen ailelerin bebekleri çalışmadan çıkarıldı.

Bebeklerin demografik ve neonatal özellikleri, antibiyotik kullanımı, probiyotik kullanımı, yenidoğan döneminde geçirdikleri hastalıklar, konulan tanılar kayıt formuna kaydedildi (**Ek.1**).

Bağırsak florasını incelemek için bağırsak bakterilerinin genom analizini yapmak gereklidir. Bu inceleme için taze dışkı örneğinin laboratuvara kısa sürede ulaştırılması gerekmektedir. Ayrıca bakteri genom analizi yöntemi oldukça maliyetli ve ileri düzeyde laboratuvar donanımı gerektirmektedir. Bu nedenle bağırsak florasının ürünü olan D-laktat düzeyinin idrarda ölçülmesi yöntemi araştırma yöntemi olarak tercih edildi.

Yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi başlanan bebekler çalışma grubu olarak alındı. Çalışma grubundaki bebeklerden antibiyotik tedavisi başlanmadan önce aile onamları alındıktan sonra bez bölgesine idrar torbası bağlanarak idrar örnekleri alındı. Bu bebeklerden antibiyotik tedavisi bitiminde taburculuk öncesi aynı yöntem ile yeniden idrar örnekleri alındı. Antibiyotik tedavisi bitiminden 4 hafta sonra rutin yenidoğan poliklinik kontrolüne geldiklerinde yeniden torba bağlama yöntemi ile idrar örnekleri alındı.

Çalışma grubu içinde, ünitemizde yenidoğan döneminde anne sütü alamadığı veya yeterli gelmediği için erken dönemde mama desteği verilmek zorunda kalınan ve bu nedenle probiyotik desteği (aç karnına günde bir kez, Maflor® damla plus 8 mL, *Lactobacillus Rhamnosus GG (LGG)* , 6 damla=0.27 mL=1 milyar koloni) 6 damla/gün ağızdan başlanan ve devam eden bebekler alt grup olarak incelendi. Antibiyotik tedavisi sırasında ya da öncesinde probiyotik desteği alan bebekler çalışma dışında tutuldu. Dördüncü haftanın sonunda probiyotik alan ve almayan bebeklerin idrar D-laktat düzeyleri karşılaştırıldı. Katılımcıların hiçbir şekilde gruplara ataması yapılmadı. Ailelere sorumlu doktorları tarafından söylenen probiyotik kullanımı ve probiyotik kullanımına devam edilmesi önerilerine herhangi bir müdahalede bulunulmadı.

Herhangi bir hastalığı olmayan ve Bölüm 82 Kadın Doğum Servisinde anne yanında izlenen bebekler sağlıklı kontrol grubunu oluşturdu. Bu bebeklerden yaşamın ilk 48-72 saati içinde torba yöntemi ile idrar örnekleri alındı.

Yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi başlanan bebeklerin tedavi başlanmadan önceki idrar örneklerindeki D-laktat, kreatinin ve D-laktat/kreatinin düzeyleri ile tedavi bitimindeki değerleri karşılaştırıldı. Daha sonra çalışma grubunda probiyotik alan ve almayan alt gruptaki bebeklerin idrar D-laktat, kreatinin ve D-laktat/kreatinin düzeyleri 4. haftanın sonunda karşılaştırıldı. Sağlıklı kontrol grubundaki bebeklerin idrar D-laktik asit düzeyleri, geç prematüre ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerin normal idrar D-laktik asit düzeylerini tespit etmek amacıyla kullanıldı.

Toplanan idrar örnekleri 3000 rpm 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen supernatant -80 derecede dondurularak saklandı. İdrar örneklerindeki D-laktik asit düzey tayini, İnsan D-laktik asit Elisa kiti (BT Lab) yönergesi takip edilerek gerçekleştirildi (298). İdrar kreatinin düzeyleri, idrar konsantrasyon farklılıklarını ortadan kaldırmak için ölçüldü.

D-laktat atılımı, idrar kreatinin düzeyleri ile oranlanarak (mmol/mol kreatinin) standart hale getirildi. İdrar kreatinin düzeyleri ‘‘Jaffe yöntemi’’ ile tayin edildi.

3.1. İstatistiksel Analiz Yöntemi

İstatistiksel analiz SPSS 22.0 (Statistical Programme Social Sciences) paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde nitel veriler için frekansları ve yüzdeleri verilirken, nicel veriler için normal dağılan verilerde tanımlayıcı istatistiksel metotlardan ortalama, standart sapma; normal dağılmayan verilerde medyan, minimum ve maksimum değerleri verilmiştir. Normal dağılan verilerin tespitinde, Kolmogrow-Smirnov testi veya Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırmasında ki kare testi veya Fisher’s exact test kullanılırken nicel verilerin karşılaştırılmasında 2 gruptan oluşuyorsa normal dağılım gösteren bağımsız gruplarda student t testi, normal dağılım göstermeyen bağımsız gruplarda ise Mann-Whitney *U* testi uygulanmıştır. Üç bağımlı grubun karşılaştırmasında normal dağılım göstermedikleri için Friedman testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel hesaplamalar, %95 güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

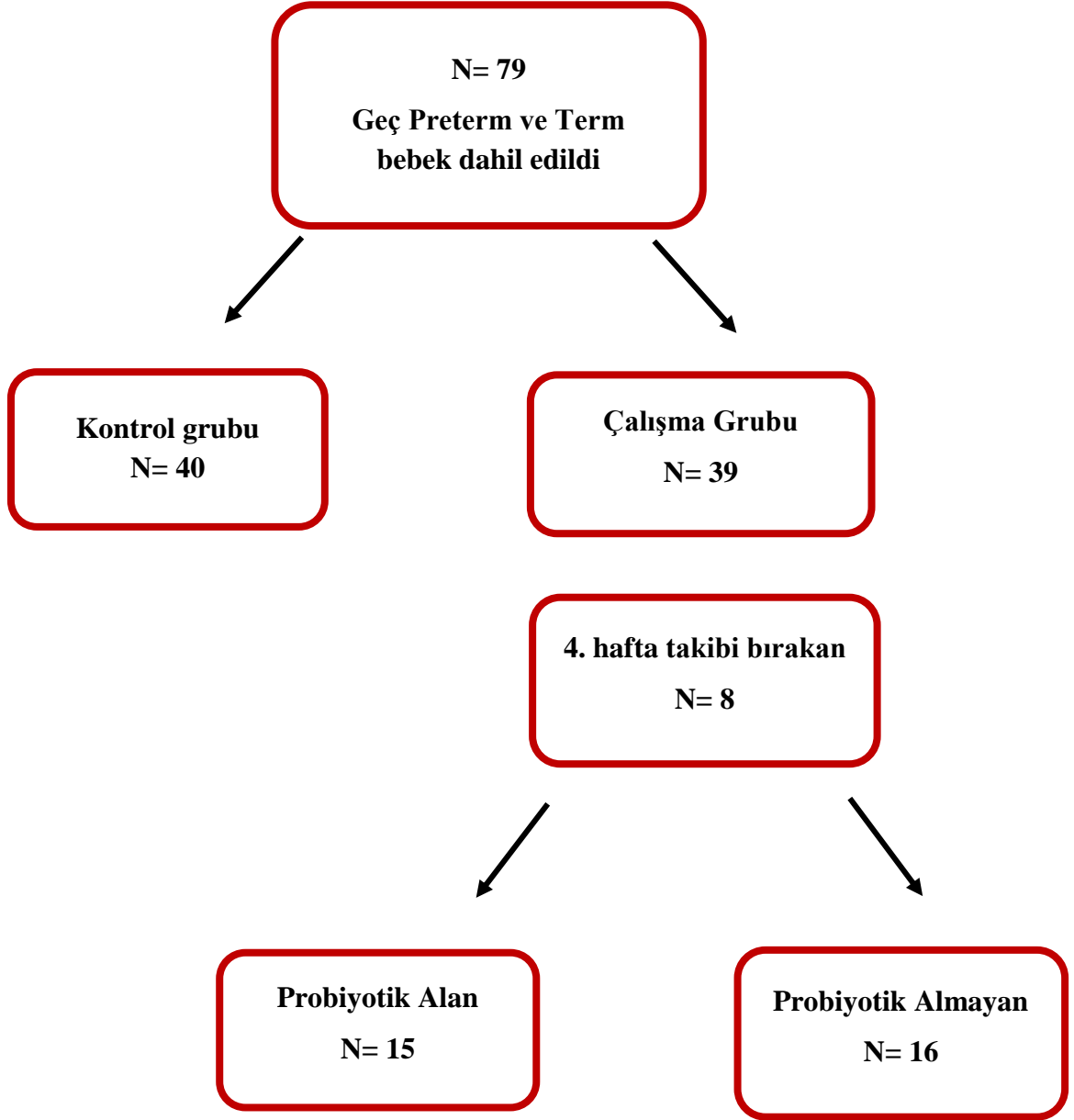
Çalışmaya kontrol grubunda sağlıklı geç prematüre ve zamanında doğan 40 bebek, çalışma grubunda yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi başlanan geç prematüre ve zamanında doğan 39 bebek olmak üzere toplam 79 bebek dahil edildi. Çalışma grubundaki 8 bebek dördüncü hafta kontrolüne gelmediği için çalışma 71 bebek ile sonlandırıldı (**Şekil 4.1**).

Çalışma grubundaki bebeklerin annelerinin yaş ortalaması $29,49 \pm 5,62$ yıl, kontrol grubundaki bebeklerin annelerinin yaş ortalaması $30,30 \pm 6,23$ yıl idi. Çalışma grubundaki bebeklerin annelerinden 8'i (% 20,5), kontrol grubundaki bebeklerin annelerinden 11'i (% 27,5) gebelikte antibiyotik kullanmıştı. Her iki grupta da antenatal steroid kullanımı yoktu.

Çalışma grubundaki bebeklerin annelerinin 20'sinde (% 51,3) gebelikte eşlik eden hastalık mevcuttu. En sık görülen komorbidite tiroid patolojileri (n=6) ve gestasyonel diyabet (n=6) iken bunu migren (n=4), gebelik hipertansiyonu (n=3) ve böbrek hastalıkları (n=3) izledi. Kontrol grubundaki bebeklerin annelerinin 27'sinde (% 67,5) gebelikte eşlik eden hastalık mevcuttu. En sık eşlik eden hastalık tiroid hastalıkları (n=13) iken bunu trombofili (n=5), gestasyonel diyabet (n=3), migren (n=3), gebelik hipertansiyonu (n=2) ve multiple skleroz (n= 1) izledi.

Çalışma ve kontrol grubundaki anneler arasında **Tablo 4.1**'de yer alan demografik ve klinik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$).

Şekil 4.1: Çalışmaya katılan bebeklerin akış şeması



Tablo 4.1: Annelerin demografik ve klinik özellikleri

		Çalışma Grubu (n:39)	Kontrol Grubu (n:40)	P
Anne yaşı, yıl^β		29,49±5,62	30,30±6,23	0,545
Annenin Gebelikte Antibiyotik Kullanımı*		8 (% 20,5)	11 (% 27,5)	0,468
Sigara kullanımı*		1 (% 2,6)	5 (% 12,5)	0,201
Alkol kullanımı*		1 (% 2,6)	-	0,494
Prenatal tarama*	Normal	32 (% 82,1)	31 (% 77,5)	0,615
	Anormal	7 (% 17,9)	9 (% 22,5)	
Annede hastalık varlığı*		20 (% 51,3)	27 (% 67,5)	0,142
<p>Normal dağılan sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ile değerlendirilirken normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir.</p> <p>Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler için ki-kare veya Fisher's exact test*, normal dağılan sayısal değişkenler için Student-t testi^β, normal dağılmayanlar içinse Mann Whitney U testi^φ kullanılmıştır.</p>				

Çalışma grubundaki bebeklerin 16'sı (% 41) kız, 23'ü (% 59) erkekti. Çalışma grubundaki bebeklerin 10'u (% 25,6) NSVY ile, 29'u (% 74,4) C/S ile doğdu. Kontrol grubundaki bebeklerin 19'u (% 47,5) kız, 21'i (% 52,5) erkek bebektir. Kontrol grubundaki bebeklerin 4'ünün (% 10) doğum şekli NSVY iken 36'sının (% 90) doğum şekli C/S idi. Çalışma grubundaki bebeklerin 1'i (% 2,6), kontrol grubundaki bebeklerin 6'sı (15%) in vitro fertilizasyon (IVF) ile oluşan gebelikti.

Gebelik yaşlarına göre çalışma grubundaki bebeklerin 11'i (% 28,2) geç preterm (34 hafta sıfır gün - 36 hafta 6 gün), 21'i (% 53,8) erken term (37 hafta sıfır gün - 38 hafta altı gün) ve 7'si (% 17,9) zamanında doğan bebek (39 hafta sıfır gün ve üstü) idi. Kontrol grubundaki bebeklerin 5'i (% 12,5) geç preterm, 27'si (% 67,5) erken term ve 8'i (% 20) zamanında doğan bebek idi. Çalışma grubundaki bebeklerin gebelik yaşı ortalaması $37,51 \pm 1,83$ (38,1) hafta, kontrol grubundaki bebeklerin gebelik yaşı ortalaması $38,03 \pm 1,18$ (38,05) hafta idi.

Çalışma grubundaki bebeklerin ortalama doğum ağırlığı $3006,79 \pm 618,07$ g, kontrol grubundaki bebeklerin ortalama doğum ağırlığı $3060,25 \pm 490,50$ gr idi. Çalışma grubundaki bebeklerin 32'si (% 82,1) gebelik yaşına göre uygun doğum ağırlıklı bebekler (AGA), 3'ü (% 7,7) gebelik yaşına göre ağırlığı küçük bebekler (SGA) ve 4'ü (% 10,3) gebelik yaşına göre ağırlığı büyük bebekler (LGA) iken kontrol grubundaki bebeklerin 35'i (% 87,5) AGA, 3'ü (% 7,5) SGA ve 2'si (% 5) LGA idi.

Çalışma ve kontrol grubundaki bebekler arasında demografik ve klinik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$) (**Tablo 4.2**).

Çalışma grubundaki bebeklere en sık antibiyotik başlanma nedeni neonatal sepsis idi (**Tablo 4.3**). Bu bebeklerin 19'sı (% 48,7) klinik tanıli sepsis iken, kültür kanıtlı sepsis sayısı 3 (% 7,7) idi.

Tablo 4.2: Bebeklerin demografik ve klinik özellikleri

		Çalışma Grubu (n:39)	Kontrol Grubu (n:40)	p
Cinsiyet*	Kız	16 (% 41)	19 (% 47,5)	0,562
	Erkek	23 (% 59)	21 (% 52,5)	
IVF/Spontan*	Spontan	38 (% 97,4)	34 (% 85)	0,108
	IVF	1 (% 2,6)	6 (% 15)	
SGA/AGA/ LGA*	AGA	32 (% 82,1)	35 (% 87,5)	0,735
	SGA	3 (% 7,7)	3 (% 7,5)	
	LGA	4 (% 10,3)	2 (% 5)	
Gebelik Yaşları*	34 ^{0/7} -36 ^{6/7}	11 (% 28,2)	5 (% 12,5)	0,217
	37 ^{0/7} -38 ^{6/7}	21 (% 53,8)	27 (% 67,5)	
	39 ≤	7 (% 17,9)	8 (% 20)	
Gebelik Yaşı^Φ		37,51±1,83 (38,1)	38,03±1,18 (38,05)	0,398
Doğum Şekli*	NSVY	10 (% 25,6)	4 (% 10)	0,069
	C/S	29 (% 74,4)	36 (% 90)	
Doğum Ağırlığı, g^β		3006,79±618,07	3060,25±490,50	0,671
Apgar 5. dk^Φ		9,61±0,72 (10)	9,83±0,50 (10)	0,082
Akrabalık		6 (% 15,4)	6 (% 15)	0,962
Polihidroamniyoz		2 (% 5,1)	1 (% 2,5)	0,615
Oligohidroamniyoz		2 (% 5,1)	3 (% 7,5)	0,999
EMR*		4 (% 10,3)	-	0,055
Koryoamniyonit		1 (% 2,6)	-	0,494
Normal dağılan sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ile değerlendirilirken normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir.				
Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler için ki-kare veya Fisher's exact test*, normal dağılan sayısal değişkenler için Student-t testi^β, normal dağılmayanlar içinse Mann Whitney U testi^Φ kullanılmıştır.				
EMR*: Erken Membran Rüptürü				

Tablo 4.3: Çalışma Grubundaki Bebeklerin Tanıları

Neonatal Tanı	Çalışma Grubu (n:39)	
	n	(%)
Sepsis	22	(% 56,4)
Kültür kanıtlı sepsis	3	(% 7,7)
Klinik tanı sepsis	19	(% 48,7)
Pnömoni	9	(% 23)
İdrar Yolu Enfeksiyonu	5	(% 12,8)
Konjonktivit	1	(% 2,6)
Mekonyum Aspirasyon Sendromu	1	(% 2,6)
Perianal Apse	1	(% 2,6)
Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir.		

Çalışmaya alındıkları sırada çalışma grubundaki bebeklerin 15'i (% 38,5) anne sütü, 16'sı (% 41) anne sütü ve mama, 1'i (% 2,6) sadece mama, 4'ü (% 10,2) anne sütü ve total parenteral nutrisyon (TPN), 1'i (% 2,6) mama ve TPN, 2'si (% 5,1) anne sütü, mama ve TPN ile beslenmekte idi. Kontrol grubundaki bebeklerin ise 27'si (% 67,5) sadece anne sütü ile beslenirken 13'ü (% 32,5) anne sütü ve mama ile beslenmekte idi (**Tablo 4.4**).

Tablo 4.4: Çalışma grubunun beslenme şekillerine göre dağılımları

Beslenme Şekli	Çalışma Grubu (n:39)	Kontrol Grubu (n:40)
	n (%)	n (%)
Anne Sütü	15 (% 38,5)	27 (% 67,5)
Mama	1 (% 2,6)	-
Anne Sütü+Mama	16 (% 41)	13 (% 32,5)
Anne Sütü+TPN	4 (% 10,2)	-
Mama+TPN	1 (% 2,6)	-
Anne Sütü+Mama+TPN	2 (% 5,1)	-
Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir.		

Çalışma grubundaki bebeklerin 30'una (% 76,9) ampisilin ile gentamisin (2'li antibiyotik tedavisi) , 5'ine (% 12,8) amikasin, meropenem, vankomisin, flukanazol (4'lü antibiyotik tedavisi), 4'üne (% 10,3) önce 2'li sonra 4'lü antibiyotik tedavisi uygulanmıştı (**Tablo 4.5**). Bebeklere uygulanan toplam antibiyotik süresi 4 ila 19 gün arasında değişmekte olup ortancası 8 gün idi (**Tablo 4.6**).

Tablo 4.5: Çalışma grubundaki bebeklere uygulanan antibiyotik tedavilerinin dağılımı

Antibiyotik Tedavisi	n (%)
Ampisilin, Gentamisin (2'li tedavi)	30 (% 76,9)
Amikasin, Meropenem, Vankomisin, Flukanazol (4'lü tedavi)	5 (% 12,8)
Önce 2'li sonra 4'lü tedavi	4 (% 10,3)
Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir.	

Tablo 4.6: Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik kullanım süresi

	Medyan (Minimum-Maksimum değer)
Antibiyotik Süresi, gün	8 (4-19)

Çalışma grubundaki bebeklerden 15'i (% 38,5) probiyotik desteği aldı. Bu bebeklerin tamamı taburculuk sonrası probiyotik desteği başlanan bebeklerdi. Antibiyotik tedavisi öncesinde ya da sırasında probiyotik kullanan bebek yoktu. Bebeklerden 2'sine (% 5,1) entübasyon, 11'ine (% 28,2) devamlı ekspiryum sonu pozitif basınç (CPAP), 3'üne (% 7,9) serbest oksijen desteği uygulandı. Çalışma grubunda antibiyotik tedavisi alan bebeklerden 9'unda (% 23,1) kültür pozitifliği saptandı (**Tablo 4.7**).

Tablo 4.7: Çalışma grubundaki bebeklere uygulanan probiyotik, entübasyon, CPAP, serbest oksijen desteği ve kültür pozitifliği.

		N (%)	
Probiyotik	Yok	16	(% 51,6)
	Var	15	(% 48,4)
Entübasyon	Yok	37	(% 94,9)
	Var	2	(% 5,1)
CPAP	Yok	28	(% 71,8)
	Var	11	(% 28,2)
Serbest Oksijen	Yok	35	(% 92,1)
	Var	3	(% 7,9)
Kültür Pozitifliği	Yok	30	(% 76,9)
	Var	9	(% 23,1)
Kategorik değişkenler frekans ve (%) ile değerlendirilmiştir.			

Kontrol grubu ile çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar D-laktat, kreatinin ve D-laktat/kreatinin düzeyleri **Tablo 4.8**'de verilmiştir. Kontrol grubundaki bebeklerin ilk 48-72 saat içindeki ortalama idrar D-laktat düzeyleri $20,57 \pm 3,67$ $\mu\text{mol/L}$, idrar kreatinin düzeyleri 74,01 (12,24-132,94) mg/dl, ortanca idrar D-laktat atılım düzeyleri 3,15 (1,23-14,11) mmol/mol kreatinin idi.

Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar D-laktat düzeyleri ile kontrol grubundaki bebeklerin idrar D-laktat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar kreatinin düzeyleri kontrol grubundaki bebeklere göre daha düşüktü ($p<0,001$). Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar D-laktat/kreatinin oranları kontrol grubundaki bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,001$).

Tablo 4.8: Antibiyotik tedavisi öncesi çalışma grubu ile kontrol grubunun idrar D-laktat ($\mu\text{mol/L}$), idrar kreatinin (mg/dl) ve idrar D-laktat/kreatinin (mmol/mol) düzeylerinin karşılaştırması

	Çalışma Grubu (n:39)	Kontrol Grubu (n:40)	p
İdrar D-laktat, $\mu\text{mol/L}$^β	$\bar{X} \pm \text{SS}$ 21,58 \pm 4,51	$\bar{X} \pm \text{SS}$ 20,57 \pm 3,67	0,277
İdrar Kreatinin, mg/dl^φ	Median (min-maks) 19,49 (4,49-91,77)	Median (min-maks) 74,01 (12,24-132,94)	<0,001
İdrar D-laktat/kreatinin, mmol/mol^φ	13,12 (1,97-57,75)	3,15 (1,23-14,11)	<0,001
Normal dağılan sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma ile değerlendirilirken normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir. Normal dağılan sayısal değişkenler için Student-t testi ^β , normal dağılmayanlar içinse Mann Whitney U testi ^φ kullanılmıştır.			
\bar{X} : ortalama SS: standart sapma			

Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki-tedavi sonrası ve tedavi sonrası dördüncü hafta idrar örneklerindeki D-laktat düzeyleri **Tablo 4.9**'da verilmiştir. Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi öncesi ortalama idrar D-laktat düzeyi $21,58 \pm 4,51$ $\mu\text{mol/L}$, antibiyotik tedavisi sonrası ortalama idrar D-laktat düzeyi $21,42 \pm 6,44$ $\mu\text{mol/L}$ ve tedavi sonrası 4. hafta ortalama idrar D-laktat düzeyi $19,83 \pm 6,02$ $\mu\text{mol/L}$ idi. Çalışma grubunda antibiyotik tedavisi öncesi, antibiyotik tedavisi sonrası ve tedavi sonrası 4. haftadaki ortalama idrar D-laktat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.9: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar D-laktat düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$)

	$\bar{X} \pm SS$	p
Antibiyotik tedavisi öncesi D-laktat, $\mu\text{mol/L}$	$21,58 \pm 4,51$	
Antibiyotik tedavisi sonrası D-laktat, $\mu\text{mol/L}$	$21,42 \pm 6,44$	0,307
Antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta D-laktat, $\mu\text{mol/L}$	$19,83 \pm 6,02$	
Normal dağılan veriler ortalama±standart sapma ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada <i>repeated measures ANOVA</i> kullanılmıştır.		

Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki – tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. hafta idrar örneklerindeki idrar kreatinin düzeyleri **Tablo 4.10'** da verilmiştir. Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi öncesi idrar kreatinin düzeyi 19,49 (4,49-97,77) mg/dl, tedavi sonrası idrar kreatinin düzeyi 10,75 (0,45-46,98) mg/dl ve tedavi sonrası 4. hafta idrar kreatinin 8,20 (1,31-16,72) mg/dl idi. Çalışma grubunda antibiyotik tedavisi öncesi, tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. haftadaki idrar kreatinin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$). Antibiyotik tedavisi sonrası idrar kreatinin düzeyi, tedavi öncesine göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,0016$). Tedavi sonrası 4. hafta idrar kreatinin düzeyi de tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü ($p<0,001$). Ancak tedavi sonrası idrar kreatinin düzeyi ile tedavi sonrası 4. hafta arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.10: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar kreatinin düzeyleri (mg/dl)

	Medyan (min-maks)	P	Çoklu karşılaştırma
Antibiyotik tedavisi öncesi idrar kreatinin, mg/dl	19,49 (4,49-97,77)		1-2:0,0016
Antibiyotik tedavisi sonrası idrar kreatinin, mg/dl	10,75 (0,45-46,98)	<0,001	1-3:<0,001
Antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar kreatinin, mg/dl	8,20 (1,31-16,72)		2-3:0,296
Normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada Friedman test kullanılmıştır.			

Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki - tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. hafta idrar örneklerindeki D-laktat/kreatinin düzeyleri **Tablo 4.11**'de verilmiştir. Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi öncesi idrar D-laktat/kreatinin oranı 13,12 (1,97-57,75) mmol/mol, tedavi sonrası idrar D-laktat/kreatinin oranı 20,27 (5,04-581,58) mmol/mol ve tedavi sonrası 4. hafta idrar D-laktat/kreatinin oranı 27,20 (9,85-174) mmol/mol idi. Antibiyotik tedavisi sonrası idrar D-laktat/kreatinin oranı, antibiyotik tedavisi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,047$). Antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar D-laktat/kreatinin oranı da, antibiyotik tedavisi öncesine göre anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,001$). Ancak antibiyotik tedavi sonrası idrar D-laktat/kreatinin oranı ile tedavi sonrası 4.hafta arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.11: Çalışma grubundaki bebeklerin idrar D-laktat/kreatinin oranları (mmol/mol)

	Medyan (min-maks)	p	Çoklu karşılaştırma
Antibiyotik tedavisi öncesi D-laktat/kreatinin, mmol/mol¹	13,12 (1,97-57,75)		1-2:0,047
Antibiyotik tedavisi sonrası D-laktat/kreatinin, mmol/mol²	20,27 (5,04-581,58)	<0,001	1-3:<0,001
Tedavi sonrası 4. hafta D-laktat/kreatinin, mmol/mol³	27,20 (9,85-174)		2-3:0,126
Normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada Friedman test kullanılmıştır.			

Çalışma grubundaki probiyotik desteği alan ve almayan bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki - tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. hafta idrar örneklerindeki D-laktat, kreatinin, D-laktat/kreatinin düzeyleri **Tablo 4.12**'de verilmiştir.

Çalışma grubundaki probiyotik desteği alan bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar D-laktat ve kreatinin düzeyleri daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Probiyotik desteği alan bebeklerin almayan bebeklere göre antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar D-laktat/kreatinin oranı daha düşük olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Probiyotik desteği alan bebeklerin antibiyotik tedavisi sonrası idrar D-laktat düzeyi daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Antibiyotik tedavisi sonrası idrar kreatinin düzeyi probiyotik alan bebeklerde daha düşük olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Probiyotik desteği alan bebeklerde antibiyotik tedavisi sonrası idrar D-laktat/kreatinin oranı probiyotik almayan bebeklere göre daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Probiyotik desteği alan bebeklerin antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar D-laktat düzeyi daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar kreatinin düzeyi probiyotik alan bebeklerde daha düşük olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Probiyotik desteği alan bebeklerin almayan bebeklere göre antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar D-laktat/kreatinin oranı daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.12: Çalışma grubunda probiyotik desteği alan ve almayan bebeklerin antibiyotik tedavisi öncesi- tedavi sonrası ve tedavi sonrası 4. hafta D-laktat ($\mu\text{mol/L}$), idrar kreatinin (mg/dl) ve D-laktat/kreatinin (mmol/mol) düzeylerinin karşılaştırması

	Probiyotik Alan (n:15)	Probiyotik Almayan (n:24)	p
	$\bar{X} \pm \text{SS} / \text{Medyan (min-maks)}$	$\bar{X} \pm \text{SS} / \text{Medyan (min-maks)}$	
Antibiyotik öncesi D-laktat, $\mu\text{mol/L}^{\beta}$	21,76 \pm 4,85	21,47 \pm 4,38	0,849
Antibiyotik öncesi idrar kreatinin, mg/dl^{Φ}	23,21 (7,23-81,22)	17,53 (4,49-91,77)	0,415
Antibiyotik öncesi D-laktat/kreatinin, mmol/mol^{Φ}	11,25 (2,36-35,96)	13,55 (1,97-57,75)	0,502
Antibiyotik sonrası D-laktat, $\mu\text{mol/L}^{\beta}$	21,70 \pm 6,60	21,24 \pm 6,47	0,832
Antibiyotik sonrası idrar kreatinin, mg/dl^{Φ}	8,72 (0,45-46,98)	12,3 (3-45,1)	0,383
Antibiyotik sonrası D-laktat/kreatinin, mmol/mol^{Φ}	22,72 (6,62-581,58)	20,12 (5,04-54,79)	0,432
	Probiyotik Alan (n: 15)	Probiyotik Almayan (n:16)	p
Antibiyotik sonrası 4. hafta D-laktat, $\mu\text{mol/L}^{\beta}$	19,94 \pm 6,35	19,74 \pm 5,91	0,927
Antibiyotik sonrası 4. hafta idrar kreatinin, mg/dl^{β}	7,86 \pm 3,89	8,47 \pm 4,29	0,682
Antibiyotik sonrası 4. hafta D-laktat/kreatinin, mmol/mol^{Φ}	27,20 (10,79-174)	27,01 (9,85-104,96)	0,861
Normal dağılan sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma ile değerlendirilirken normal dağılmayan veriler medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir. Normal dağılan sayısal değişkenler için Student-t testi $^{\beta}$, normal dağılmayanlar içinse Mann Whitney U testi $^{\Phi}$ kullanılmıştır.			

5. TARTIŞMA

Sağlıklı mikrobiyal kolonizasyon (*'eubiosis'*) ve mikrobiyata-konak arasındaki etkileşimler bireyin yaşamında derin bir etkiye sahiptir. Yenidoğanın erken bağırsak mikrobiyal kolonizasyonu ise kritik bir yaşta gerçekleşen; bir bebeğin sağlıklı immünolojik, hormonal ve metabolik gelişiminin düzenlenmesi için önemli bir adım gibi görünmektedir. Modern moleküler tanı yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde maternal, fetal ve neonatal mikrobiyatadaki değişikliklerin bazı hastalıklarda çok önemli bir rol oynadığı gösterildi (299). Erken bağırsak disbiozisi ile çeşitli kronik hastalıkların gelişme riskinin ilişkili olması nedeniyle disbiyozisin tespit edilmesi, bağırsak mikrobiyotasının yönetimi veya probiyotik takviyesi ile disbiyozun düzeltilmesi kavramı neonatolojide umut verici bir araştırma alanıdır.

Yenidoğan mikrobiyotası, sağlıklı term bebeklerde ve özellikle dinamik doğası göz önüne alındığında prematüre bebeklerde oldukça hassastır ve konağın kısa veya uzun vadeli sağlığını önemli ölçüde etkileyebilecek dış etkilere son derece duyarlıdır (9). Mikrobiyal kompozisyonunun şekillenmesinde önemli rol oynayan faktörler yaş (146, 147), konağın genetiği (148-150), doğum şekli (118, 148, 149), beslenme şekli (anne sütü veya formül mama) (118, 149), bebeklerin doğduğu-izlendiği çevre (118) ve antibiyotik kullanımınıdır (147-149).

Antibiyotikler, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde bebeklere en sık uygulanan tedavilerdendir (10). Yenidoğanlarda enfeksiyonun klinik bulgularının spesifik olmaması ve sonuçları göz önüne alındığında enfeksiyondan şüphelenildiğinde ampirik antibiyotik tedavisi verilmektedir. Antibiyotik kullanımının yenidoğanlarda kritik faydalı etkisinin yanında istenmeyen ve bazen olumsuz sonuçları olabilir. Antibiyotik maruziyeti, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini azaltabilir, faydalı bakterilerin kolonizasyonunu geciktirebilir ve oluşan disbiyotik ortam bebekleri NEK'e daha yatkın hale getirebilir (11). Çalışmalar özellikle kan ve BOS kültürlerinde üreme olmadığı halde yaşamın ilk günlerinden itibaren antibiyotik kullanılan prematüre bebeklerde NEK, sepsis ve ölüm riskinde artış olduğunu göstermiştir (12, 300, 301). Bu nedenle yenidoğanlarda antibiyotik tedavisinin etkilerini anlamak kritik önem taşır.

D-Laktik asit, normal şartlar altında insanda majör rolü olmayan laktat izomeridir. L-laktik asitten çok daha düşük miktarlarda (nanomolar konsantrasyonda) mitokondriyal metilglioksalaz yolu ile endojen olarak üretilir (24). İnsanda D-laktik asitin en önemli kaynağı bağırsaktaki laktik asit bakterileri tarafından üretilmesi ya da L-laktik asitten dönüştürülmesidir. Normal şartlar altında, dokudaki metabolizma veya bağırsaktaki bakteriyel fermentasyon yoluyla üretilen D-laktat; kan, idrar veya dışkıda klinik olarak önemli miktarda laktat yükselmesine neden olmaz. Ancak çeşitli nedenlerle artmış gastrointestinal mikrobiyal üretim sonucu D-laktik asit milimolar konsantrasyonlarda ölçülebilir (5, 6).

Bağırsaklarda artmış bakteriyel D-laktat üretimi, çoğunlukla kısa bağırsak sendromu olan hastalarda veya jejunoileal baypas cerrahisi sonrasında tanımlanmıştır. Değişmiş gastrointestinal sistem anatomisi ve anormal bakteriyel floranın kombinasyonundan dolayı artmış D-laktat üretimi ve sonucunda D-laktik asidoz gelişimi kısa bağırsak sendromunda iyi tanımlanmış bir komplikasyondur (1). Nielsen ve arkadaşları (302) daha yüksek konsantrasyonlarda ölçülen D-laktik asit düzeylerinin gastrointestinal sistemdeki bakteriyel fermentasyondan kaynaklandığını intestinal iskemi modelinde gösterdi.

Tüm bunlar dikkate alındığında çalışmamızda geç prematüre ve zamanında doğan bebeklerde normal idrar D-laktat düzeylerini belirlemeyi, antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisini indirekt olarak idrarda D-laktat atılım düzeyi ile göstermeyi ve antibiyotik tedavisi alan bebeklerde probiyotik desteğinin bozulmuş bağırsak florası üzerine düzeltici etkisini yine idrar D-laktat atılım düzeylerini karşılaştırarak araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızdaki bebeklerin çoğu AGA (sırasıyla % 82,1 ve % 87,5), term (sırasıyla % 53,8 ve % 67,5) ve C/S ile (sırasıyla % 74,4 ve % 90) doğmuş bebeklerdi. Her iki grupta da bebeklerin ve annelerinin demografik ve klinik özellikleri arasında farklılık yoktu ($p>0,05$). En sık antibiyotik tedavisi başlama endikasyonu sepsis (klinik tanı sepsis $n=19$, kültür kanıt sepsis $n=3$) iken kohortumuzda kültür pozitifliği toplam 9 hastada (% 23,1) saptandı. Çalışma grubundaki 15 bebek probiyotik desteği aldı.

İdrar kreatinin ölçümü, herhangi bir maddenin idrarda atılım oranını ölçmek için bir ölçüt olarak kullanılır. Herhangi bir maddenin idrar konsantrasyonunun, idrar kreatinine oranı, zamanlanmış idrar toplama (örn. 24 saatlik idrar toplama) ihtiyacını ortadan kaldırır (303). Bu nedenle çalışmamızda idrar D-laktat düzeylerini idrar kreatinin düzeyleri ile oranlayarak (mmol/mol kreatinin) karşılaştırdık.

Çalışmamızda geç prematüre ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerin yaşamın ilk 48-72 saatindeki normal idrar D-laktat düzeylerini tespit ettik. Kontrol grubundaki sağlıklı 40 geç preterm ve term bebeğin ortalama idrar D-laktat düzeyleri $20,57 \pm 3,67 \mu\text{mol/L}$, ortanca idrar D-laktat atılım düzeyleri $3,15 \text{ mmol/mol}$ kreatinin olarak ölçüldü. Çalışmamızda sağlıklı bebeklerde gözlenen minimum idrar D-laktat atılım düzeyi $1,23 \text{ mmol/mol}$ kreatinin iken, maksimum $14,11 \text{ mmol/mol}$ kreatinin olarak ölçüldü. Literatürde Haschke ve arkadaşlarının sağlıklı bebek ve çocuklarda ($n= 61$) normal idrar D-laktat konsantrasyonlarını belirlemeyi amaçlayan çalışmalarında, 0-134 günlük bebeklerde ortanca idrar D-laktat düzeyi 6.4 mmol/mol kreatinin ve % 95. persentil değeri 33.9 mmol/mol kreatinin olarak bulundu (59). Bizim çalışmamızda sağlıklı bebeklerde gözlenen maksimum idrar D-laktat düzeyi $14,11 \text{ mmol/mol}$ kreatinin idi ve bu çalışmadaki referans değerlerden daha düşük olarak tespit edildi. Literatürde sadece yenidoğanlarda yapılmış referans çalışması bulunmamaktadır ve bu çalışmamızın özgün noktalarından biridir. Çalışmamızda sağlıklı geç prematüre ve term yenidoğanların idrarlarından elde ettiğimiz D-laktat referans değerleri fizyolojik ve patolojik D-laktat atılımı arasında daha iyi bir ayırım yapılmasına katkıda bulunabilir.

Kontrol grubu ile çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik tedavisi başlanmadan önceki idrar örneklerindeki D-laktat düzeylerini karşılaştırdık. Çalışma grubundaki bebeklerin antibiyotik başlanmadan önceki idrar D-laktat atılımlarının (ortanca: $13,12 \text{ mmol/mol}$ kreatinin), kontrol grubundaki bebeklere göre (ortanca: $3,15 \text{ mmol/mol}$ kreatinin) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğunu bulduk ($p<0,001$). Kontrol grubundaki bebeklerin idrar kreatinin düzeyleri (ortanca: $74,01 \text{ mg/dl}$), çalışma grubundaki bebeklere göre (ortanca: $19,49 \text{ mg/dl}$) daha yüksekti ($p<0,001$). Hayato ve arkadaşları (304) yenidoğanlarda serum kreatinin düzeylerinin tüm gebelik yaşlarında maternal serum kreatinin düzeylerini yansıttığını gösterdi. Yine benzer şekilde Lao ve arkadaşları, yenidoğan serum kreatinin düzeylerinin doğum ağırlığı ve maternal serum kreatinin ile

ilişkili olduğunu bildirdi (305). Kohortumuzda çalışma ve kontrol gruplarında yer alan bebeklerin doğum ağırlıkları arasında fark yoktu ($p=0,398$). Kontrol grubunda yer alan sağlıklı yenidoğanların yaşamın ilk 48-72 saatindeki idrar kreatinin yüksekliğinin erken yenidoğan dönemindeki maternal kreatinin yükü nedeniyle olduğunu düşündük.

Literatürde yenidoğanlarda D-laktat ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada NEK'li bebeklerde idrar D-laktat atılımının arttığı ve artmış D-laktat atılımının NEK'te artmış enterik bakteriyel aktivitenin sonucu olduğu gösterildi (15). Lei ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, NEK'li prematüre bebeklerde plazma D-laktat düzeyi yüksek bulundu ve D-laktatın NEK tanısı için erken bir biyobelirteç görevi görebileceği ifade edildi (16). Chen ve arkadaşları (17) ise çalışmalarında, plazma D-laktat düzeylerinin NEK'te prognostik bir faktör olduğu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösterdi.

Çalışmamızın bir diğer özgün noktası geç prematüre ve term bebeklerde antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisini indirekt olarak idrar D-laktat atılım düzeyi ile göstermiş olmamızdır. Antibiyotik tedavisi alan bebeklerin tedavi sonrası idrar D-laktat atılım düzeyleri (ortanca: 20,27 mmol/mol kreatinin), tedavi öncesine (ortanca: 13,12 mmol/mol kreatinin) göre belirgin olarak daha yüksekti ($p=0,047$). Literatürde yer alan D-laktat ve NEK arasındaki ilişkiye paralel olarak biz de antibiyotik tedavisinin neden olduğu bağırsak disbiyozisinin D-laktat atılımını arttığını düşünüyoruz.

Antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir. Fouhy ve arkadaşları ampisilin ve gentamisin tedavisi alan dokuz bebeğin bağırsak mikrobiyotasını karşılaştırdıkları çalışmalarında, antibiyotik tedavisi alan bebeklerin tedavinin kesilmesinden 4 hafta sonra antibiyotik almayan kontrollere göre önemli ölçüde daha yüksek *Proteobacteria* oranlarına ve önemli ölçüde daha düşük *Actinobacteria* (ve ilişkili *Bifidobacterium* cinsine) oranlarına ve daha düşük *Lactobacillus* cinsine sahip olduğunu ortaya çıkardı (191). Ayrıca bu çalışmada mikrobiyatadaki değişikliklerin antibiyotik tedavisi alan bebeklerde 8. haftaya kadar devam ettiği gösterildi.

Greenwood ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, doğum sonrası ilk günlerde kısa süreli antibiyotik tedavisi kullanan yenidoğanlarda mikrobiyom çeşitliliğinin daha kısa sürede düzeldiği öne sürüldü. Daha kısa süreli antibiyotik kürlerinin (1-3 güne karşı 5-7 gün), florayı birkaç hafta boyunca baskıladığı ve değiştirdiği, ancak düzelmenin doğum sonrası üçüncü haftadan sonra gerçekleştiği gösterildi. Yoğun ampirik antibiyotik tedavisi alan yenidoğanlarda ise gastrointestinal sistemin mikrobiyal çeşitliliğindeki azalmanın çalışmanın 3. haftasında da devam ettiği görüldü (205).

Bizim çalışmamızda çalışma grubundaki bebeklerin 30'una (% 76,9) ampisilin ile gentamisin (2'li antibiyotik tedavisi), 5'ine (% 12,8) amikasin, meropenem, vankomisin, flukanazol (4'lü antibiyotik tedavisi), 4'üne (% 10,3) önce 2'li sonra 4'lü antibiyotik tedavisi uygulanmıştı. Bebeklere uygulanan toplam antibiyotik süresi 4 ila 19 gün arasında değişmekte olup ortancası 8 gün idi. Yani çalışma grubundaki bebekler yoğun antibiyotik tedavisi alan bebeklerdi.

Çalışmamızda antibiyotik tedavisi alan bebeklerin antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar D-laktat atılım düzeyleri (ortanca: 27,2 mmol/mol kreatinin), antibiyotik tedavisi öncesine göre (ortanca: 13,12 mmol/mol kreatinin) hala yüksek seyretti ($p<0,001$). Antibiyotik bitiminde bakılan düzeylerine göre (ortanca: 20,27 mmol/mol kreatinin) ise farklı olmadığı görüldü ($p=0,126$). Bu durum çalışma grubundaki bebeklerin yoğun antibiyotik tedavisi almaları ve antibiyotik tedavisinin bağırsak mikrobiyotasında meydana getirdiği değişikliklerin 4 haftadan daha uzun sürmesi ile ilgili olabilir.

Erken bağırsak disbiyozisi ile çeşitli kronik hastalıkların gelişme riskinin ilişkili olması nedeniyle erken probiyotik takviyesinin bağırsak florasını düzeltici etkisi kapsamlı şekilde araştırılmıştır (306). Probiyotik takviyesi NEK, akut gastroenterit ve antibiyotikle ilişkili ishalin önlenmesinde klinik olarak faydalı bir şekilde bağırsak mikrobiyotasını hedefleyen alternatif bir tedavi seçeneği olarak birçok çalışmada gösterilmiştir (285, 307).

Probiyotik desteği ile bağırsağın patojenik olmayan florayla yeniden kolonizasyonu, D-laktik asidoz için uzun vadeli bir tedavi seçeneği olarak literatürde birçok vaka raporunda bildirilmiştir (92). Yılmaz ve arkadaşları (308) tekrarlayan D-laktik asidoz atakları olan kısa bağırsak sendromlu bir bebekte probiyotik tedavisinin, D-laktat üreten bakterilerin varlığını

doğrudan etkileyerek D-laktik asidoz krizini durdurduğunu ve tekrarı önlemede son derece faydalı olabileceğini belirtti.

Probiyotik desteğinin potansiyel faydalı etkilerinin yanı sıra D-laktik asit üreten suşları içeren probiyotik kullanımının, D-laktik asit düzeyinde zararlı bir artışa neden olabileceği konusunda endişeler mevcuttur. Bu nedenle sağlıklı bebeklerde fermante formüla ve probiyotik katkılı formülaların D-laktik asit üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Yaşamın ilk gününden itibaren *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 veya plasebo alan bebekler üzerinde yapılan bir çalışmada, gruplar arasında 6. ve 12. ayda serum D-laktat düzeylerinde hiçbir fark görülmedi (309).

Haschke ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, *Lactobacillus johnsonii* La 1 içeren formüla mama, probiyotik içermeyen formüla mama veya sadece anne sütü ile beslenen 16 haftalık 71 sağlıklı bebekte idrarda D-laktat atılımının, anne sütü alan gruba kıyasla formül mama ile beslenen iki grupta da önemli ölçüde arttığını buldu (310). Ancak formüla mama ile beslenen iki grup karşılaştırıldığında önemli bir fark olmadığı, probiyotik eklenmiş mamaların D-laktik asit birikimi açısından risk oluşturmadığı bildirildi.

Yaşamın ilk 28 gününde *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 içeren formüla mama veya probiyotik içermeyen formüla mama ile beslenen 88 sağlıklı bebek üzerinde yapılan bir çalışmada, probiyotik katkılı formüla alan grupta 7. ve 14. günde idrar D-laktat atılımında geçici bir artış olduğu, 28. günde kontrol grubu düzeylerine indiği ve 4. ayda kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü (311). Özetle literatürdeki bu çalışmalarda D-laktik asit üreten suşları içeren probiyotik ile desteklenmiş formüla mama ile beslenen sağlıklı bebeklerde D-laktik asidoz için artmış risk bulunamamıştır.

Lactobacillus rhamnosus GG, insan gastrointestinal sisteminden izole edilen ve kapsamlı bir şekilde çalışılmış bir probiyotiktir (254). Yenidoğanlarda sıklıkla kullanılan bir suştur, çoğu hastada güvenli ve patojenik değildir (312). LGG ayrıca, D-laktik asit değil sadece L-laktik asit üretir (6). Yapılan bir çalışmada yenidoğanlarda LGG takviyesi ile idrar D-laktat atılımının artmadığı gösterilmiştir (313).

Biz de çalışmamızda antibiyotik tedavisi alan bebeklerde probiyotik desteğinin (LGG) bağırsak florasını düzeltici etkisini idrar D-laktat atılım düzeylerindeki azalma ile göstermek istedik. Antibiyotik tedavisi sonrası probiyotik desteği alan bebeklerin 4. hafta idrar D-laktat atılım düzeylerinde (ortanca: 27,2 mmol/mol kreatinin), probiyotik almayan bebeklere göre (ortanca: 27,01 mmol/mol kreatinin) istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Bu sonuç birkaç durum ile ilgili olabilir. Probiyotik kullanımının varlığı ailelerin sözel beyanı ile kaydedildi. Probiyotik kullanan bebeklerin ne kadarında yeterli kolonizasyon sağlandığını bilmiyoruz. Bağırsak mikrobiyotası genetik arka plan, klinik müdahale ve çevresel faktörlerden etkilenmeye yatkındır. Bebeklerin beslenme şekli ve ritmi, buldukları çevre koşulları, maruz kaldıkları diğer faktörler flora üzerinde değişken olabilir. Probiyotik desteği almayan gruptaki bebekler, anne sütü ile beslenen bebeklerdi ve anne sütünün pre-probiyotik içermesi de karıştırıcı bir faktör olabilir. Ayrıca antibiyotik ilişkili bağırsak disbiyozisinin 4 haftadan daha uzun sürmesi ve probiyotik desteğinin düzeltici etkisinin daha uzun uygulama süresi gerektirmesi de etkili olabilir.

Çalışmamız, antibiyotik tedavisi kesildikten sonra mikrobiyotadaki iyileşmenin indirekt göstergesi olarak idrar D-laktat atılım düzeyinin ne zaman eski düzeylere azaldığına değinmemektedir. Probiyotik alan grupta yeterli kolonizasyon olup olmadığını ölçmek, antibiyotik tedavisi sonrası 4. haftada disbiyozisin devam edip etmediğini anlamak için bağırsak bakterilerinin genom analizini yapmak gereklidir. Çalışma grubundaki bebeklerin eş zamanlı mikrobiyota profilinin izlenmesi, bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi hakkındaki bilgilerimizi artırabilir. Bu bilgiler tedavi stratejilerimizi daha da geliştirmemize olanak sağlayacaktır.

Çalışmamızda en önemli kısıtlayıcı faktör COVID 19 pandemisi nedeniyle hasta sayımızdaki azlıktı. Sağlıklı yenidoğanlardaki normal idrar D-laktat atılım düzeyleri, daha geniş hasta serilerinde ve gebelik haftalarına göre gruplandırılarak belirlenebilir. Daha fazla sayıda hasta ile yapılacak ileriki çalışmalarda beslenme şekli, doğum şekli, gebelik haftası gibi değişkenlerin idrar D-laktat atılım düzeyi üzerine etkisi daha iyi anlaşılabilir. Ayrıca daha fazla hasta sayısı ile yapılacak ileriki çalışmalarda anne sütü veya mama ile beslenen bebeklerin idrar D-laktat atılım düzeyleri karşılaştırılabilir. Farklı antimikrobiyal ajanlar, bağırsak mikrobiyotası üzerinde farklı etkiler yaratabilir. Kullanılan farklı antibiyotik

rejimlerinin bağırsak florası üzerine direkt veya indirekt etkilerini karşılaştırmak ilginç olabilir.

Erken yaşamda antibiyotik kullanımının, uzun vadeli etkileri bilinmeyen ve bağırsak mikrobiyotasının gelişimi üzerinde önemli etkilere sahip olabileceği açıktır. Literatürdeki çalışmalar yaşamın erken dönemlerinde çeşitli çevresel faktörlerin bağırsak florası üzerine etkisi olduğunu gösterirken, antibiyotik uygulamasının en etkili faktörlerden biri olduğu görülmektedir. Çalışmamız antibiyotik tedavisi nedeniyle gelişen bağırsak disbiyozisinin indirekt göstergesi olarak idrar D-laktat atılım düzeyinin kullanılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda probiyotik kullanımın antibiyotik ilişkili disbiyozisi düzeltmedeki etkisini 4. haftada idrar D-laktat atılım düzeyleri ile gösteremedik. Çeşitli ve uzun süreli antimikrobiyal kullanımının yarattığı kalıcı ve istenmeyen sonuçların kullanım kesildikten ne kadar sürede düzeldiğini bilmemekle birlikte, probiyotik desteği sağlıklı bir mikrobiyomun geri kazanımını kısa sürede garanti edemez. Bu çalışmadaki sonuçlarımız ışığında şu anki bilgilerimize göre yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi sonrası rutin probiyotik desteği başlanması önerilemez, bunun için daha fazla sayıda hasta ile daha fazla çalışma yapılması gerekir.

Çalışmamız bildiğimiz kadarı ile antibiyotik ilişkili disbiyozisi indirekt olarak bağırsak florasının ürünü olan idrar D-laktat atılım düzeyleri ile değerlendiren ve sağlıklı geç preterm-term bebeklerde normal referans değerlerini araştıran ilk çalışmadır ve bu konuda yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici olacaktır.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya Şubat 2020 - Eylül 2020 tarihleri arasında hastanemizde doğan kontrol grubunda sağlıklı geç prematüre ve term 40 bebek, çalışma grubunda yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi başlanan geç prematüre ve term 39 bebek olmak üzere toplam 79 bebek dahil edildi. Çalışma grubundaki 8 bebek dördüncü hafta kontrolüne gelmediği için çalışma 71 bebek ile sonlandırıldı. Çalışma grubu içinde probiyotik alan (n= 15) ve almayan bebekler (n= 16) alt grup olarak incelendi.
2. Çalışma ve kontrol grubundaki bebeklerin çoğu AGA (% 82,1 ve % 87,5), term (sırasıyla % 53,8 ve % 67,5) ve C/S ile (sırasıyla % 74,4 ve % 90) doğmuş bebeklerdi. Her iki grupta da bebeklerin ve annelerinin demografik ve klinik özellikleri arasında farklılık yoktu.
3. En sık antibiyotik tedavisi başlama endikasyonu sepsis (klinik tanıli sepsis n=19, kültür kanıtlı sepsis n=3) iken kohortumuzda kültür pozitifliği toplam 9 hastada (% 23,1) saptandı. Çalışma grubundaki bebeklerin 30'una (% 76,9) ampisilin ile gentamisin (2'li antibiyotik tedavisi), 5'ine (% 12,8) amikasin, meropenem, vankomisin, flukanazol (4'lü antibiyotik tedavisi), 4'üne (% 10,3) önce 2'li sonra 4'lü antibiyotik tedavisi uygulandı. Bebeklere uygulanan toplam antibiyotik süresi 4 ila 19 gün arasında değişmekte olup ortancası 8 gün idi.
4. Çalışmamızda geç prematüre ve zamanında doğan sağlıklı bebeklerin yaşamın ilk 48-72 saatindeki ortalama idrar D-laktat düzeyleri $20,57 \pm 3,67$ $\mu\text{mol/L}$, ve ortanca idrar D-laktat atılım düzeyleri 3,15 mmol/mol kreatinin olarak ölçüldü. Çalışmamızda sağlıklı bebeklerde gözlenen minimum idrar D-laktat atılım düzeyi 1,23 mmol/mol kreatinin iken, maksimum 14,11 mmol/mol kreatinin idi.
5. Kontrol grubundaki bebeklerin idrar kreatinin düzeyleri çalışma grubundaki bebeklere göre daha yüksekti ($p<0,001$). Kontrol grubunda yer alan sağlıklı yenidoğanların yaşamın ilk 48-72 saatindeki idrar kreatinin yüksekliğinin erken yenidoğan dönemindeki maternal kreatinin yükü nedeniyle olduğunu düşünüldü.

6. Literatürde sadece yenidoğanlarda yapılmış idrar D-laktat düzeylerini gösteren referans çalışması bulunmamaktadır ve çalışmamız bir ilktir. Çalışmamızda sağlıklı geç prematüre ve term yenidoğanların idrarlarından elde ettiğimiz D-laktat referans değerleri fizyolojik ve patolojik D-laktat atılımı arasında daha iyi bir ayırım yapılmasına katkıda bulunabilir.
7. Sağlıklı yenidoğanlardaki normal idrar D-laktat atılım düzeyleri, daha geniş hasta serilerinde ve gebelik haftalarına göre gruplandırılarak belirlenebilir. Daha fazla hasta sayısı ile yapılacak ileriki çalışmalarda anne sütü veya mama ile beslenen bebeklerin idrar D-laktat konsantrasyonları karşılaştırılabilir. Kullanılan farklı antibiyotik rejimlerinin bağırsak florası üzerine direkt veya indirekt etkilerini karşılaştırmak ilginç olabilir.
8. Antibiyotik tedavisi alan bebeklerin antibiyotik tedavisi sonrası idrar D-laktat atılım düzeyleri tedavi öncesine göre belirgin olarak daha yüksekti ($p=0,047$). Antibiyotik tedavisinin bağırsak florası üzerine olumsuz etkisi, indirekt olarak idrar D-laktat atılım düzeylerindeki artış ile gösterildi. Çalışmamız antibiyotik tedavisi nedeniyle gelişen bağırsak disbiyozisinin indirekt göstergesi olarak idrar D-laktat atılım düzeylerinin kullanılabileceğini göstermektedir.
9. Çalışmamızda antibiyotik tedavisi alan bebeklerin antibiyotik tedavisi sonrası 4. hafta idrar D-laktat atılım düzeyi, antibiyotik tedavisi öncesine göre hala yüksek seyretti ($p<0,001$). Antibiyotik bitiminde bakılan düzeylerine göre ise farklı olmadığı görüldü ($p=0,126$). Bu durum çalışma grubundaki bebeklerin yoğun antibiyotik tedavisi almaları ve antibiyotik tedavisinin bağırsak florasında meydana getirdiği değişikliklerin 4 haftadan daha uzun sürmesi ile ilgili olabileceği düşünüldü.
10. Probiyotik alan grupta yeterli kolonizasyon durumunu ölçmek, antibiyotik tedavisi sonrası 4. haftada disbiyozisin devam edip etmediğini anlamak için bağırsak bakterilerinin genom analizini yapmak gereklidir. Çalışma grubundaki bebeklerin eş zamanlı mikrobiyota profilinin izlenmesi, bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi hakkındaki bilgilerimizi artırabilir. Bu bilgiler tedavi stratejilerimizi daha da geliştirmemize olanak sağlayacaktır.

11. Antibiyotik tedavisi sonrası probiyotik desteği alan bebeklerin 4. hafta idrar D-laktat atılım düzeylerinde, probiyotik almayan bebeklere göre farklılık yoktu ($p>0,05$). Probiyotik kullanımın varlığının ailelerin sözel beyanı ile kaydedilmesi, probiyotik kullanan bebeklerin ne kadarında yeterli kolonizasyon sağlandığının bilinmemesi, genetik arka plan, bebeklerin beslenme şekli ve ritmi, buldukları çevre koşulları, maruz kaldıkları diğer faktörler bu sonuç ile ilişkili olabilir. Ayrıca probiyotik desteği almayan gruptaki bebekler, anne sütü ile beslenen bebeklerdi ve anne sütünün pre-probiyotik içermesi de karıştıracı bir faktör olabilir.
12. Çalışmamızda probiyotik kullanımın antibiyotik ilişkili disbiyozisi düzeltmedeki etkisini 4. haftada idrar D-laktat atılım düzeyleri ile gösteremedik. Bu çalışmadaki sonuçlarımız ve şu anki bilgilerimize göre yenidoğan döneminde antibiyotik tedavisi sonrası rutin probiyotik desteği başlanması önerilemez. Bu konu hakkında daha fazla hasta sayısı ile daha fazla çalışma yapılması gerekir. Çalışmamız bu anlamda literatürde bir ilktir ve bu konuda yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Petersen C. D-lactic acidosis. Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. 2005;20(6):634-45.
2. Thornalley PJ. The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life. The Biochemical journal. 1990;269(1):1-11.
3. Thornalley PJ. Modification of the glyoxalase system in human red blood cells by glucose in vitro. The Biochemical journal. 1988;254(3):751-5.
4. Fabian E, Kramer L, Siebert F, Hogenauer C, Raggam RB, Wenzl H, et al. D-lactic acidosis - case report and review of the literature. Zeitschrift fur Gastroenterologie. 2017;55(1):75-82.
5. Uribarri J, Oh MS, Carroll HJ. D-lactic acidosis. A review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms. Medicine. 1998;77(2):73-82.
6. Mack DR. D(-)-lactic acid-producing probiotics, D(-)-lactic acidosis and infants. Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie. 2004;18(11):671-5.
7. Filyk HA, Osborne LC. The Multibiome: The Intestinal Ecosystem's Influence on Immune Homeostasis, Health, and Disease. EBioMedicine. 2016;13:46-54.
8. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Lancet. 2003;361(9356):512-9.
9. Houghteling PD, Walker WA. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to infants' and children's health? Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2015;60(3):294-307.
10. Clark RH, Bloom BT, Spitzer AR, Gerstmann DR. Reported medication use in the neonatal intensive care unit: data from a large national data set. Pediatrics. 2006;117(6):1979-87.
11. Neu J. The Microbiome and Its Impact on Disease in the Preterm Patient. Current pediatrics reports. 2013;1(4):215-21.
12. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. Pediatrics. 2009;123(1):58-66.

13. Dani C, Biadaioli R, Bertini G, Martelli E, Rubaltelli FF. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biology of the neonate*. 2002;82(2):103-8.
14. Shlomai NO, Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for preterm neonates: what will it take to change clinical practice? *Neonatology*. 2014;105(1):64-70.
15. Garcia J, Smith FR, Cucinell SA. Urinary D-lactate excretion in infants with necrotizing enterocolitis. *The Journal of pediatrics*. 1984;104(2):268-70.
16. Lei G, Zhang J, Wang X, Chen M. Plasma D-lactate Levels in Necrotizing Enterocolitis in Premature Infants. *Iranian journal of pediatrics*. 2016;26(2):e4403.
17. Chen D, Lei G, Peng W. Relationship between plasma D-lactate levels and prognosis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Chinese Journal of Perinatal Medicine*. 2011;14(10):583-6.
18. Scheele C. The Collected Papers of Carl Wilhelm Scheele. *Nature*. 1931;128(3242):1023-4.
19. Bogaert J, Naidu A. Lactic acid. In: Naidu AS, editor. *Natural Food Antimicrobial Systems in Section V, Chapter 22. United States of America: CRS Press; 2000.*
20. Benninga H. A History of Lactic Acid Making. A Chapter in the History of Biotechnology (Chemists and Chemistry)1990. p. 479:1.
21. Ewaschuk JB, Zello GA, Naylor JM, Brocks DR. Metabolic acidosis: separation methods and biological relevance of organic acids and lactic acid enantiomers. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2002;781(1-2):39-56.
22. Borba A, Gómez-Zavaglia A, Lapinski L, Fausto R. Rotational isomers of lactic acid: first experimental observation of higher energy forms. *Phys Chem Chem Phys*. 2004;6(9):2101-8.
23. Omole OO, Brocks DR, Nappert G, Naylor JM, Zello GA. High-performance liquid chromatographic assay of (+/-)-lactic acid and its enantiomers in calf serum. *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications*. 1999;727(1-2):23-9.
24. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *The Journal of nutrition*. 2005;135(7):1619-25.

25. Narayanan N, Roychoudhury P, Srivastava A. L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2004;7:167-78.
26. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clinic proceedings*. 2013;88(10):1127-40.
27. Consoli A, Nurjhan N, Reilly JJ, Jr., Bier DM, Gerich JE. Contribution of liver and skeletal muscle to alanine and lactate metabolism in humans. *The American journal of physiology*. 1990;259(5 Pt 1):E677-84.
28. Leverve XM. Energy metabolism in critically ill patients: lactate is a major oxidizable substrate. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 1999;2(2):165-9.
29. Gladden L. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of physiology*. 2004;558(1):5-30.
30. Tayek JA, Katz J. Glucose production, recycling, Cori cycle, and gluconeogenesis in humans: relationship to serum cortisol. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1997;272(3):E476-E84.
31. Cano N. Bench-to-bedside review: glucose production from the kidney. *Critical care*. 2002;6(4):1-5.
32. Bellomo R. Bench-to-bedside review: lactate and the kidney. *Critical Care*. 2002;6(4):322.
33. Brooks G. Lactate: glycolytic end product and oxidative substrate during sustained exercise in mammals—the “lactate shuttle”. *Circulation, Respiration, and Metabolism*: Springer; 1985. p. 208-18.
34. Gladden L. Muscle as a consumer of lactate. *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32:764-71.
35. Stanley WC, Gertz EW, Wisneski JA, Neese RA, Morris DL, Brooks GA. Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. *Journal of applied physiology*. 1986;60(4):1116-20.
36. Bonen A, Homonko DA. Effects of exercise and glycogen depletion on gluconeogenesis in muscle. *Journal of applied physiology*. 1994;76(4):1753-8.
37. Pagliassotti MJ, Donovan CM. Role of cell type in net lactate removal by skeletal muscle. *The American journal of physiology*. 1990;258(4 Pt 1):E635-42.

38. Brooks GA. Current concepts in lactate exchange. *Med Sci Sports Exerc.* 1991;23(8):895-906.
39. Taguchi H, Ohta T. D-lactate dehydrogenase is a member of the D-isomer-specific 2-hydroxyacid dehydrogenase family: Cloning, sequencing, and expression in *Escherichia coli* of the D-lactate dehydrogenase gene of *Lactobacillus plantarum*. *The Journal of biological chemistry.* 1991;266:12588-94.
40. Flick MJ, Konieczny SF. Identification of putative mammalian D-lactate dehydrogenase enzymes. *Biochemical and biophysical research communications.* 2002;295(4):910-6.
41. Kalapos MP. Methylglyoxal in living organisms: chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications. *Toxicology letters.* 1999;110(3):145-75.
42. Christopher MM, Eckfeldt JH, Eaton JW. Propylene glycol ingestion causes D-lactic acidosis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology.* 1990;62(1):114-8.
43. Omole OO, Nappert G, Naylor JM, Zello GA. Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. *The Journal of nutrition.* 2001;131(8):2128-31.
44. Hove H, Mortensen PB. Colonic lactate metabolism and D-lactic acidosis. *Digestive diseases and sciences.* 1995;40(2):320-30.
45. Bongaerts GP, Tolboom JJ, Naber AH, Sperl WJ, Severijnen RS, Bakkeren JA, et al. Role of bacteria in the pathogenesis of short bowel syndrome-associated D-lactic acidemia. *Microbial pathogenesis.* 1997;22(5):285-93.
46. Kaneko T, Bando Y, Kurihara H, Satomi K, Nonoyama K, Matsuura N. Fecal microflora in a patient with short-bowel syndrome and identification of dominant lactobacilli. *Journal of clinical microbiology.* 1997;35(12):3181-5.
47. Satoh T, Narisawa K, Konno T, Katoh T, Fujiyama J, Tomoe A, et al. D-lactic acidosis in two patients with short bowel syndrome: bacteriological analyses of the fecal flora. *European journal of pediatrics.* 1982;138(4):324-6.
48. Perlmutter DH, Boyle JT, Campos JM, Egler JM, Watkins JB. D-Lactic acidosis in children: an unusual metabolic complication of small bowel resection. *The Journal of pediatrics.* 1983;102(2):234-8.
49. Caldarini MI, Pons S, D'Agostino D, DePaula JA, Greco G, Negri G, et al. Abnormal fecal flora in a patient with short bowel syndrome. An in vitro study on effect of pH on D-lactic acid production. *Digestive diseases and sciences.* 1996;41(8):1649-52.

50. Ramakrishnan T, Stokes P. Beneficial effects of fasting and low carbohydrate diet in D-lactic acidosis associated with short-bowel syndrome. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 1985;9(3):361-3.
51. Buglass A, Lee SH. Applications of chiral ligand-exchange chromatography for the analysis of D- and L-lactic acid content of wine and other foodstuffs. *LC-GC North America*. 2003;21:554-62.
52. Fall PJ, Szerlip HM. Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. *Journal of intensive care medicine*. 2005;20(5):255-71.
53. Ohmori S, Iwamoto T. Sensitive determination of D-lactic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography*. 1988;431(2):239-47.
54. Jorens PG, Demey HE, Schepens PJ, Coucke V, Verpooten GA, Couttenye MM, et al. Unusual D-lactic acid acidosis from propylene glycol metabolism in overdose. *Journal of toxicology Clinical toxicology*. 2004;42(2):163-9.
55. Ku WH, Lau DCY, Huen KF. Probiotics Provoked D-lactic Acidosis in Short Bowel Syndrome: Case Report and Literature Review. *Hong Kong Journal of Paediatrics*. 2006;11.
56. de Vrese M, Barth CA. Postprandial plasma D-lactate concentrations after yogurt ingestion. *Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft*. 1991;30(2):131-7.
57. McLellan AC, Phillips SA, Thornalley PJ. Fluorimetric assay of D-lactate. *Analytical biochemistry*. 1992;206(1):12-6.
58. Connor H, Woods HF, Ledingham JG. Comparison of the kinetics and utilisation of D(-)-and L(+)-sodium lactate in normal man. *Annals of nutrition & metabolism*. 1983;27(6):481-7.
59. Haschke-Becher E, Baumgartner M, Bachmann C. Assay of D-lactate in urine of infants and children with reference values taking into account data below detection limit. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2000;298(1-2):99-109.
60. de Bari L, Atlante A, Guaragnella N, Principato G, Passarella S. D-Lactate transport and metabolism in rat liver mitochondria. *The Biochemical journal*. 2002;365(Pt 2):391-403.
61. Enerson BE, Drewes LR. Molecular features, regulation, and function of monocarboxylate transporters: implications for drug delivery. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2003;92(8):1531-44.

62. Tamai I, Takanaga H, Maeda H, Sai Y, Ogihara T, Higashida H, et al. Participation of a proton-cotransporter, MCT1, in the intestinal transport of monocarboxylic acids. *Biochemical and biophysical research communications*. 1995;214(2):482-9.
63. Vella A, Farrugia G. D-lactic acidosis: pathologic consequence of saprophytism. *Mayo Clinic proceedings*. 1998;73(5):451-6.
64. Tubbs PK. The metabolism of D-alpha-hydroxy acids in animal tissues. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1965;119(3):920-6.
65. Cammack R. Assay, purification and properties of mammalian D-2-hydroxy acid dehydrogenase. *The Biochemical journal*. 1969;115(1):55-64.
66. Kowlgi NG, Chhabra L. D-lactic acidosis: an underrecognized complication of short bowel syndrome. *Gastroenterology research and practice*. 2015;2015:476215.
67. Nakae Y, Stoward PJ. Kinetic parameters of lactate dehydrogenase in liver and gastrocnemius determined by three quantitative histochemical methods. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 1997;45(10):1427-31.
68. Cammack R. D-2-hydroxy acid dehydrogenase from animal tissue. *Methods in enzymology*. 1975;41:323-9.
69. Cammack R. Mammalian D-2-hydroxy acid dehydrogenase. Effect of inhibitors and reaction sequence. *The Biochemical journal*. 1970;118(3):405-8.
70. Yasuda T, Ozawa S, Shiba C, Maeba T, Kanazawa T, Sugiyama M, et al. D-lactate metabolism in patients with chronic renal failure undergoing CAPD. *Nephron*. 1993;63(4):416-22.
71. de Vrese M, Koppenhoefer B, Barth CA. D-lactic acid metabolism after an oral load of DL-lactate. *Clinical nutrition*. 1990;9(1):23-8.
72. Oh MS, Uribarri J, Alveranga D, Lazar I, Bazilinski N, Carroll HJ. Metabolic utilization and renal handling of D-lactate in men. *Metabolism: clinical and experimental*. 1985;34(7):621-5.
73. Naylor JM, Kronfeld DS, Freeman DE, Richardson D. Hepatic and extrahepatic lactate metabolism in sheep: effects of lactate loading and pH. *The American journal of physiology*. 1984;247(6 Pt 1):E747-55.
74. Brandt RB, Siegel SA, Waters MG, Bloch MH. Spectrophotometric assay for D-(-)-lactate in plasma. *Analytical biochemistry*. 1980;102(1):39-46.

75. Kang KP, Lee S, Kang SK. D-lactic acidosis in humans: review of update. *Electrolyte & blood pressure : E & BP.* 2006;4(1):53-6.
76. Halperin ML, Kamel KS. D-lactic acidosis: turning sugar into acids in the gastrointestinal tract. *Kidney international.* 1996;49(1):1-8.
77. Coran AG. The effect of lactated Ringer's solution on blood and urine levels of lactate isomers. *The Journal of surgical research.* 1971;11(9):450-3.
78. Drury DR. Chemistry and metabolism of L(+) and D(-) lactic acids. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1965;119(3):1061-9.
79. Giesecke D, Fabritius A. Oxidation and excretion of D-lactic acid by rats. *Experientia.* 1974;30(10):1124-5.
80. Giesecke D, von Wallenberg P. Metabolism of D(-)lactic acid in rats given high intragastral doses. *Comparative biochemistry and physiology B, Comparative biochemistry.* 1985;82(2):255-8.
81. Oh MS, Phelps KR, Traube M, Barbosa-Saldivar JL, Boxhill C, Carroll HJ. D-lactic acidosis in a man with the short-bowel syndrome. *The New England journal of medicine.* 1979;301(5):249-52.
82. Dunlop RH, Hammond PB. D-lactic acidosis of ruminants. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1965;119(3):1109-32.
83. Nordgaard I, Hansen BS, Mortensen PB. Colon as a digestive organ in patients with short bowel. *Lancet.* 1994;343(8894):373-6.
84. Hove H. Lactate and short chain fatty acid production in the human colon: implications for D-lactic acidosis, short-bowel syndrome, antibiotic-associated diarrhoea, colonic cancer, and inflammatory bowel disease. *Danish medical bulletin.* 1998;45(1):15-33.
85. Bustos D, Pons S, Pernas JC, Gonzalez H, Caldarini MI, Ogawa K, et al. Fecal lactate and short bowel syndrome. *Digestive diseases and sciences.* 1994;39(11):2315-9.
86. Takahashi K, Terashima H, Kohno K, Ohkohchi N. A stand-alone synbiotic treatment for the prevention of D-lactic acidosis in short bowel syndrome. *International surgery.* 2013;98(2):110-3.
87. Bongaerts G, Tolboom J, Naber T, Bakkeren J, Severijnen R, Willems H. D-lactic acidemia and aciduria in pediatric and adult patients with short bowel syndrome. *Clinical chemistry.* 1995;41(1):107-10.

88. Dahlquist NR, Perrault J, Callaway CW, Jones JD. D-Lactic acidosis and encephalopathy after jejunioileostomy: response to overfeeding and to fasting in humans. *Mayo Clinic proceedings*. 1984;59(3):141-5.
89. Coronado BE, Opal SM, Yoburn DC. Antibiotic-induced D-lactic acidosis. *Annals of internal medicine*. 1995;122(11):839-42.
90. Flourie B, Messing B, Bismuth E, Etanchaud F, Thuillier F, Rambaud JC. [D-lactic acidosis and encephalopathy in short-bowel syndrome occurring during antibiotic treatment]. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 1990;14(6-7):596-8.
91. Gavazzi C, Stacchiotti S, Cavalletti R, Lodi R. Confusion after antibiotics. *Lancet*. 2001;357(9266):1410.
92. Uchida H, Yamamoto H, Kisaki Y, Fujino J, Ishimaru Y, Ikeda H. D-lactic acidosis in short-bowel syndrome managed with antibiotics and probiotics. *Journal of pediatric surgery*. 2004;39(4):634-6.
93. Puwanant M, Mo-Suwan L, Patrapinyokul S. Recurrent D-lactic acidosis in a child with short bowel syndrome. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2005;14(2):195-8.
94. Cross SA, Callaway CW. D-Lactic acidosis and selected cerebellar ataxias. *Mayo Clinic proceedings*. 1984;59(3):202-5.
95. Scully TB, Kraft SC, Carr WC, Harig JM. D-lactate-associated encephalopathy after massive small-bowel resection. *Journal of clinical gastroenterology*. 1989;11(4):448-51.
96. Narula RK, El Shafei A, Ramaiah D, Schmitz PG. D-lactic acidosis 23 years after jejunio-ileal bypass. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2000;36(2):E9.
97. Stolberg L, Rolfe R, Gitlin N, Merritt J, Mann L, Jr., Linder J, et al. d-Lactic acidosis due to abnormal gut flora: diagnosis and treatment of two cases. *The New England journal of medicine*. 1982;306(22):1344-8.
98. Mayne AJ, Handy DJ, Preece MA, George RH, Booth IW. Dietary management of D-lactic acidosis in short bowel syndrome. *Archives of disease in childhood*. 1990;65(2):229-31.
99. LaManna JC, Harrington JF, Vendel LM, Abi-Saleh K, Lust WD, Harik SI. Regional blood-brain lactate influx. *Brain research*. 1993;614(1-2):164-70.
100. Karton M, Rettmer RL, Lipkin EW. Effect of parenteral nutrition and enteral feeding on D-lactic acidosis in a patient with short bowel. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 1987;11(6):586-9.

101. Parrish CR, White L, editors. D-Lactic Acidosis: More Prevalent Than We Think?2015.
102. Hudson M, Pocknee R, Mowat NA. D-lactic acidosis in short bowel syndrome--an examination of possible mechanisms. *The Quarterly journal of medicine*. 1990;74(274):157-63.
103. Van Eys J, Judge MA, Judd J, Hill W, Bozian RC, Abrahams S. A reinvestigation of methylglyoxal accumulation in thiamine deficiency. *The Journal of nutrition*. 1962;76(4):375-84.
104. Godey F, Bouasria A, Ropert M, Diakite M, Le Treut A, Balencon M. Don't forget to test for D-lactic acid in short bowel syndrome. *The American journal of gastroenterology*. 2000;95(12):3675-7.
105. Munakata S, Arakawa C, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H. A case of D-lactic acid encephalopathy associated with use of probiotics. *Brain & development*. 2010;32(8):691-4.
106. Mayeur C, Gratadoux JJ, Bridonneau C, Chegdani F, Larroque B, Kapel N, et al. Faecal D/L lactate ratio is a metabolic signature of microbiota imbalance in patients with short bowel syndrome. *PloS one*. 2013;8(1):e54335.
107. Nightingale JM, Lennard-Jones JE, Gertner DJ, Wood SR, Bartram CI. Colonic preservation reduces need for parenteral therapy, increases incidence of renal stones, but does not change high prevalence of gall stones in patients with a short bowel. *Gut*. 1992;33(11):1493-7.
108. Cherbut C, Aube AC, Blottiere HM, Galmiche JP. Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. *Scandinavian journal of gastroenterology Supplement*. 1997;222:58-61.
109. Requarth JA, Burchard KW, Colacchio TA, Stukel TA, Mott LA, Greenberg ER, et al. Long-term morbidity following jejunoileal bypass. The continuing potential need for surgical reversal. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)*. 1995;130(3):318-25.
110. Bulik-Sullivan EC, Roy S, Elliott RJ, Kassam Z, Lichtman SN, Carroll IM, et al. Intestinal Microbial and Metabolic Alterations Following Successful Fecal Microbiota Transplant for D-Lactic Acidosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2018;67(4):483-7.
111. Davidovics ZH, Vance K, Etienne N, Hyams JS. Fecal Transplantation Successfully Treats Recurrent D-Lactic Acidosis in a Child With Short Bowel Syndrome. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2017;41(5):896-7.

112. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS biology*. 2016;14(8):e1002533.
113. Gritz EC, Bhandari V. The human neonatal gut microbiome: a brief review. *Frontiers in pediatrics*. 2015;3:17.
114. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;69(5):1035S-45S.
115. Canny GO, McCormick BA. Bacteria in the intestine, helpful residents or enemies from within? *Infection and immunity*. 2008;76(8):3360-73.
116. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell host & microbe*. 2015;17(5):690-703.
117. Lee SA, Lim JY, Kim B-S, Cho SJ, Kim NY, Kim OB, et al. Comparison of the gut microbiota profile in breast-fed and formula-fed Korean infants using pyrosequencing. *Nutr Res Pract*. 2015;9(3):242-8.
118. Nagpal R, Tsuji H, Takahashi T, Nomoto K, Kawashima K, Nagata S, et al. Ontogenesis of the Gut Microbiota Composition in Healthy, Full-Term, Vaginally Born and Breast-Fed Infants over the First 3 Years of Life: A Quantitative Bird's-Eye View. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:1388.
119. Arboleya S, Binetti A, Salazar N, Fernandez N, Solis G, Hernandez-Barranco A, et al. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS microbiology ecology*. 2012;79(3):763-72.
120. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS biology*. 2007;5(7):e177.
121. Pannaraj PS, Li F, Cerini C, Bender JM, Yang S, Rollie A, et al. Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. *JAMA pediatrics*. 2017;171(7):647-54.
122. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222-7.
123. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in microbiology*. 2013;21(4):167-73.

124. Groer MW, Luciano AA, Dishaw LJ, Ashmeade TL, Miller E, Gilbert JA. Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority. *Microbiome*. 2014;2:38.
125. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*. 2012;148(6):1258-70.
126. Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2013;185(5):385-94.
127. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific reports*. 2016;6:23129.
128. Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therap Adv Gastroenterol*. 2013;6(1):53-68.
129. Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nature medicine*. 2017;23(3):314-26.
130. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 2014;63(4):559-66.
131. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118(2):511-21.
132. Wall R, Ross RP, Ryan CA, Hussey S, Murphy B, Fitzgerald GF, et al. Role of gut microbiota in early infant development. *Clinical medicine Pediatrics*. 2009;3:45-54.
133. Parracho H, McCartney AL, Gibson GR. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2007;66(3):405-11.
134. Wampach L, Heintz-Buschart A, Hogan A, Muller EEL, Narayanasamy S, Laczny CC, et al. Colonization and Succession within the Human Gut Microbiome by Archaea, Bacteria, and Microeukaryotes during the First Year of Life. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:738.

135. Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in microbiology*. 2008;159(3):187-93.
136. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PloS one*. 2008;3(8):e3056.
137. Friedrich MJ. Genomes of microbes inhabiting the body offer clues to human health and disease. *Jama*. 2013;309(14):1447-9.
138. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Science translational medicine*. 2014;6(237):237ra65.
139. Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta paediatrica*. 2009;98(2):229-38.
140. Sood R, Zehnder JL, Druzin ML, Brown PO. Gene expression patterns in human placenta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(14):5478-83.
141. Stout MJ, Conlon B, Landeau M, Lee I, Bower C, Zhao Q, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013;208(3):226 e1-7.
142. Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O'Toole GA, Moore JH, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2012;97(6):F456-62.
143. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PloS one*. 2014;9(3):e90784.
144. Donders G, Bellen G, Rezeberga D. Aerobic vaginitis in pregnancy. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2011;118(10):1163-70.
145. Faa G, Gerosa C, Fanni D, Nemolato S, van Eyken P, Fanos V. Factors influencing the development of a personal tailored microbiota in the neonate, with particular emphasis on antibiotic therapy. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2013;26 Suppl 2:35-43.

146. Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC microbiology*. 2016;16:90.
147. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(29):8787-803.
148. Voreades N, Kozil A, Weir TL. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in microbiology*. 2014;5:494.
149. Wen L, Duffy A. Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes. *The Journal of nutrition*. 2017;147(7):1468S-75S.
150. Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nature reviews Microbiology*. 2011;9(4):279-90.
151. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell host & microbe*. 2015;17(6):852.
152. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *The Journal of nutrition*. 2008;138(9):1796s-800s.
153. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(26):11971-5.
154. Nagpal R, Tsuji H, Takahashi T, Kawashima K, Nagata S, Nomoto K, et al. Sensitive Quantitative Analysis of the Meconium Bacterial Microbiota in Healthy Term Infants Born Vaginally or by Cesarean Section. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:1997.
155. Martin R, Makino H, Cetinyurek Yavuz A, Ben-Amor K, Roelofs M, Ishikawa E, et al. Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota. *PloS one*. 2016;11(6):e0158498.
156. Kim KH, Fekety R, Batts DH, Brown D, Cudmore M, Silva J, Jr., et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the environment and contacts of patients with antibiotic-associated colitis. *The Journal of infectious diseases*. 1981;143(1):42-50.
157. Rousseau C, Poilane I, De Pontual L, Maherault AC, Le Monnier A, Collignon A. *Clostridium difficile* carriage in healthy infants in the community: a potential reservoir for

pathogenic strains. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012;55(9):1209-15.

158. Gabriel I, Olejek A, Stencel-Gabriel K, Wielgos M. The influence of maternal vaginal flora on the intestinal colonization in newborns and 3-month-old infants. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2018;31(11):1448-53.

159. Al-Jumaili IJ, Shibley M, Lishman AH, Record CO. Incidence and origin of *Clostridium difficile* in neonates. *Journal of clinical microbiology*. 1984;19(1):77-8.

160. Madan JC, Farzan SF, Hibberd PL, Karagas MR. Normal neonatal microbiome variation in relation to environmental factors, infection and allergy. *Current opinion in pediatrics*. 2012;24(6):753-9.

161. Di Mauro A, Neu J, Riezzo G, Raimondi F, Martinelli D, Francavilla R, et al. Gastrointestinal function development and microbiota. *Italian journal of pediatrics*. 2013;39:15.

162. Scholtens PA, Oozeer R, Martin R, Amor KB, Knol J. The early settlers: intestinal microbiology in early life. *Annual review of food science and technology*. 2012;3:425-47.

163. Bezirtzoglou E. The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe*. 1997;3(2-3):173-7.

164. Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1999;28(1):19-25.

165. Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut*. 2004;53(9):1388-9.

166. Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, Ulaszewska M, Jeffery IB, O'Shea CA, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*. 2017;5(1):4.

167. Bosch AATM, Levin E, van Houten MA, Hasrat R, Kalkman G, Biesbroek G, et al. Development of Upper Respiratory Tract Microbiota in Infancy is Affected by Mode of Delivery. *EBioMedicine*. 2016;9:336-45.

168. Dominguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, Cox LM, Amir A, Gonzalez A, et al. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nature medicine*. 2016;22(3):250-3.

169. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2012;2:94.
170. Li C, Liu Y, Jiang Y, Xu N, Lei J. Immunomodulatory constituents of human breast milk and immunity from bronchiolitis. *Italian journal of pediatrics*. 2017;43(1):8.
171. Williams JE, Price WJ, Shafii B, Yahvah KM, Bode L, McGuire MA, et al. Relationships Among Microbial Communities, Maternal Cells, Oligosaccharides, and Macronutrients in Human Milk. *Journal of human lactation : official journal of International Lactation Consultant Association*. 2017;33(3):540-51.
172. Berrington JE, Stewart CJ, Cummings SP, Embleton ND. The neonatal bowel microbiome in health and infection. *Current opinion in infectious diseases*. 2014;27(3):236-43.
173. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Advances in pediatrics*. 1999;46:353-82.
174. Oozeer R, van Limpt K, Ludwig T, Ben Amor K, Martin R, Wind RD, et al. Intestinal microbiology in early life: specific prebiotics can have similar functionalities as human-milk oligosaccharides. *The American journal of clinical nutrition*. 2013;98(2):561S-71S.
175. Makino H, Kushi A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-Infant Transmission of Intestinal Bifidobacterial Strains Has an Impact on the Early Development of Vaginally Delivered Infant's Microbiota. *PloS one*. 2013;8:e78331.
176. Cong X, Xu W, Janton S, Henderson WA, Matson A, McGrath JM, et al. Gut Microbiome Developmental Patterns in Early Life of Preterm Infants: Impacts of Feeding and Gender. *PloS one*. 2016;11(4):e0152751.
177. Musilova S, Rada V, Vlkova E, Bunesova V. Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Beneficial microbes*. 2014;5(3):273-83.
178. Putignani L, Del Chierico F, Petrucca A, Vernocchi P, Dallapiccola B. The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatric research*. 2014;76(1):2-10.
179. Civardi E, Garofoli F, Tziella C, Paolillo P, Bollani L, Stronati M. Microorganisms in human milk: lights and shadows. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2013;26 Suppl 2:30-4.

180. Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007;119(3):e724-32.
181. Donnet-Hughes A, Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, et al. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2010;69(3):407-15.
182. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiology and immunology*. 1984;28(9):975-86.
183. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. 2011;17(6):478-82.
184. Torrazza RM, Neu J. The altered gut microbiome and necrotizing enterocolitis. *Clinics in perinatology*. 2013;40(1):93-108.
185. Jain N, Walker WA. Diet and host-microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2015;12(1):14-25.
186. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *The British journal of nutrition*. 2014;111(3):387-402.
187. Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Aguilera M, Munoz-Quezada S, Bermudez-Brito M, Peso-Echarri P, et al. Three main factors define changes in fecal microbiota associated with feeding modality in infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013;57(4):461-6.
188. Piacentini G, Peroni D, Bessi E, Morelli L. Molecular characterization of intestinal microbiota in infants fed with soymilk. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2010;51(1):71-6.
189. Le Huerou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutrition research reviews*. 2010;23(1):23-36.
190. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. *Journal of medical microbiology*. 1982;15(2):189-203.
191. Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, Wall R, Ryan CA, Dempsey EM, et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota

following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(11):5811-20.

192. Azad MB, Bridgman SL, Becker AB, Kozyrskyj AL. Infant antibiotic exposure and the development of childhood overweight and central adiposity. *International journal of obesity*. 2014;38(10):1290-8.

193. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108 Suppl 1:4554-61.

194. Hviid A, Svanström H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut*. 2011;60(1):49-54.

195. Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Science translational medicine*. 2015;7(307):307ra152.

196. Metsälä J, Lundqvist A, Virta LJ, Kaila M, Gissler M, Virtanen SM. Mother's and offspring's use of antibiotics and infant allergy to cow's milk. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*. 2013;24(2):303-9.

197. Gorkiewicz G. Nosocomial and antibiotic-associated diarrhoea caused by organisms other than *Clostridium difficile*. *International journal of antimicrobial agents*. 2009;33 Suppl 1:S37-41.

198. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2011(11):CD004827.

199. Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *The Journal of pediatrics*. 2010;156(1):20-5.

200. Schumann A, Nutten S, Donnicola D, Comelli EM, Mansourian R, Cherbut C, et al. Neonatal antibiotic treatment alters gastrointestinal tract developmental gene expression and intestinal barrier transcriptome. *Physiological genomics*. 2005;23(2):235-45.

201. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WP, van Elburg RM. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clinical nutrition*. 2006;25(3):361-8.

202. Collignon A, Sandré C, Barc MC. [Saccharomyces boulardii modulates dendritic cell properties and intestinal microbiota disruption after antibiotic treatment]. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 2010;34 Suppl 1:S71-8.
203. Forsgren M, Isolauri E, Salminen S, Rautava S. Late preterm birth has direct and indirect effects on infant gut microbiota development during the first six months of life. *Acta paediatrica*. 2017;106(7):1103-9.
204. Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science translational medicine*. 2016;8(343):343ra82.
205. Greenwood C, Morrow AL, Lagomarcino AJ, Altaye M, Taft DH, Yu Z, et al. Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of Enterobacter. *The Journal of pediatrics*. 2014;165(1):23-9.
206. Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PloS one*. 2011;6(6):e20647.
207. Claud EC, Keegan KP, Brulc JM, Lu L, Bartels D, Glass E, et al. Bacterial community structure and functional contributions to emergence of health or necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Microbiome*. 2013;1(1):20.
208. Dardas M, Gill SR, Grier A, Pryhuber GS, Gill AL, Lee YH, et al. The impact of postnatal antibiotics on the preterm intestinal microbiome. *Pediatric research*. 2014;76(2):150-8.
209. Buffie CG, Jarchum I, Equinda M, Lipuma L, Gobourne A, Viale A, et al. Profound alterations of intestinal microbiota following a single dose of clindamycin results in sustained susceptibility to Clostridium difficile-induced colitis. *Infection and immunity*. 2012;80(1):62-73.
210. Relman DA. The human microbiome: ecosystem resilience and health. *Nutrition reviews*. 2012;70 Suppl 1:S2-9.
211. Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science*. 2012;336(6086):1255-62.
212. Heinken A, Sahoo S, Fleming RM, Thiele I. Systems-level characterization of a host-microbe metabolic symbiosis in the mammalian gut. *Gut microbes*. 2013;4(1):28-40.
213. Nogacka A, Salazar N, Suárez M, Milani C, Arboleya S, Solís G, et al. Impact of intrapartum antimicrobial prophylaxis upon the intestinal microbiota and the prevalence of

antibiotic resistance genes in vaginally delivered full-term neonates. *Microbiome*. 2017;5(1):93-.

214. Arboleya S, Sanchez B, Solis G, Fernandez N, Suarez M, Hernandez-Barranco AM, et al. Impact of Prematurity and Perinatal Antibiotics on the Developing Intestinal Microbiota: A Functional Inference Study. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(5).

215. Aloisio I, Quagliariello A, De Fanti S, Luiselli D, De Filippo C, Albanese D, et al. Evaluation of the effects of intrapartum antibiotic prophylaxis on newborn intestinal microbiota using a sequencing approach targeted to multi hypervariable 16S rDNA regions. *Applied microbiology and biotechnology*. 2016;100(12):5537-46.

216. Nogacka A, Salazar N, Suarez M, Milani C, Arboleya S, Solis G, et al. Impact of intrapartum antimicrobial prophylaxis upon the intestinal microbiota and the prevalence of antibiotic resistance genes in vaginally delivered full-term neonates. *Microbiome*. 2017;5(1):93.

217. Mazzola G, Murphy K, Ross RP, Di Gioia D, Biavati B, Corvaglia LT, et al. Early Gut Microbiota Perturbations Following Intrapartum Antibiotic Prophylaxis to Prevent Group B Streptococcal Disease. *PloS one*. 2016;11(6):e0157527.

218. Arboleya S, Sanchez B, Milani C, Duranti S, Solis G, Fernandez N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *The Journal of pediatrics*. 2015;166(3):538-44.

219. Kaplan JL, Shi HN, Walker WA. The role of microbes in developmental immunologic programming. *Pediatric research*. 2011;69(6):465-72.

220. Lin L, Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC immunology*. 2017;18(1):2.

221. Baldassarre ME, Di Mauro A. Dysbiosis and Prematurity: Is There a Role for Probiotics? 2019;11(6).

222. Chong CYL, Bloomfield FH, O'Sullivan JM. Factors Affecting Gastrointestinal Microbiome Development in Neonates. *Nutrients*. 2018;10(3).

223. Gibson MK, Wang B, Ahmadi S, Burnham C-AD, Tarr PI, Warner BB, et al. Developmental dynamics of the preterm infant gut microbiota and antibiotic resistome. *Nature Microbiology*. 2016;1(4):16024.

224. Grier A, Qiu X, Bandyopadhyay S, Holden-Wiltse J, Kessler HA, Gill AL, et al. Impact of prematurity and nutrition on the developing gut microbiome and preterm infant growth. *Microbiome*. 2017;5(1):158.
225. Brooks B, Olm MR, Firek BA, Baker R, Geller-McGrath D, Reimer SR, et al. The developing premature infant gut microbiome is a major factor shaping the microbiome of neonatal intensive care unit rooms. *Microbiome*. 2018;6(1):112.
226. Claud EC. Neonatal Necrotizing Enterocolitis -Inflammation and Intestinal Immaturity. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*. 2009;8(3):248-59.
227. Stewart CJ, Embleton ND, Marrs ECL, Smith DP, Fofanova T, Nelson A, et al. Longitudinal development of the gut microbiome and metabolome in preterm neonates with late onset sepsis and healthy controls. *Microbiome*. 2017;5(1):75.
228. Neu J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *The New England journal of medicine*. 2011;364(3):255-64.
229. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *The Lancet*. 2006;368(9543):1271-83.
230. Claud E, Walker WA. Hypothesis: Inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2001;15:1398-403.
231. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J*. 2009;3(8):944-54.
232. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet*. 2017;390(10104):1770-80.
233. Taft DH, Ambalavanan N, Schibler KR, Yu Z, Newburg DS, Deshmukh H, et al. Center Variation in Intestinal Microbiota Prior to Late-Onset Sepsis in Preterm Infants. *PloS one*. 2015;10(6):e0130604-e.
234. Savino F, Cresi F, Pautasso S, Palumeri E, Tullio V, Roana J, et al. Intestinal microflora in breastfed colicky and non-colicky infants. *Acta paediatrica*. 2004;93(6):825-9.
235. de Weerth C, Fuentes S, Puylaert P, de Vos WM. Intestinal microbiota of infants with colic: development and specific signatures. *Pediatrics*. 2013;131(2):e550-8.
236. FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. 2001. p. 1-4.

237. Coşkun T. Pro-, pre ve sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006;49:128-48.
238. Metchnikoff E. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. The prolongation of life: Optimistic studies W Heinemann, London. 1907:161-83.
239. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la methode de transformation de la flore bacterienne de l'intestin. *CR Soc Biol.* 1907;60: 359-61.
240. Lilly DM, Stillwell RH. PROBIOTICS: GROWTH-PROMOTING FACTORS PRODUCED BY MICROORGANISMS. *Science.* 1965;147(3659):747-8.
241. Fuller R. Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology.* 1989;66(5):365-78.
242. Saavedra JM. Use of probiotics in pediatrics: rationale, mechanisms of action, and practical aspects. *Nutrition in clinical practice.* 2007;22(3):351-65.
243. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition.* 2001;73(2):365s-73s.
244. Rolfe RD. The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *The Journal of nutrition.* 2000;130(2):396S-402S.
245. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *The American journal of clinical nutrition.* 2001;73(2):465s-70s.
246. Tıraş Ü, Yalaki Z, Öztürk A, Dallar Y. Tekrarlayan Nekrotizan Enterokolitte Oral Saccharomyces. *Medical Journal of Bakirkoy.* 2010;6(3).
247. Ibnou-Zekri N, Blum S, Schiffrin EJ, von der Weid T. Divergent patterns of colonization and immune response elicited from two intestinal Lactobacillus strains that display similar properties in vitro. *Infection and immunity.* 2003;71(1):428-36.
248. Doron S, Snyderman DR, Gorbach SL. Lactobacillus GG: Bacteriology and Clinical Applications. *Gastroenterology Clinics of North America.* 2005;34(3):483-98.
249. Goldin BR, Gorbach SL, Saxelin M, Barakat S, Gualtieri L, Salminen S. Survival of Lactobacillus species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Digestive diseases and sciences.* 1992;37(1):121-8.
250. Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, et al. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain,

Lactobacillus rhamnosusGG, after oral consumption. Applied and environmental microbiology. 1999;65(1):351-4.

251. Rinne M, Kalliomäki M, Salminen S, Isolauri E. Probiotic Intervention in the First Months of Life: Short-Term Effects on Gastrointestinal Symptoms and Long-Term Effects on Gut Microbiota. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2006;43(2):200-5.

252. Schultz M, Göttl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2004;38(3):293-7.

253. Teitelbaum JE, Walker WA. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. Annual review of nutrition. 2002;22:107-38.

254. Doron S, Snyderman DR, Gorbach SL. Lactobacillus GG: bacteriology and clinical applications. Gastroenterol Clin North Am. 2005;34(3):483-98, ix.

255. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2008;72(4):728.

256. Nagpal R, Yadav H, Kumar M, Jain S, Yamashiro Y, Marotta F. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics: An Introduction. Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health: CRC Press; 2013. p. 9-32.

257. Sarkar S. Probiotics as functional foods: gut colonization and safety concerns. Nutrition & Food Science. 2013.

258. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by Helicobacter pylori? Alimentary pharmacology & therapeutics. 2006;23(8):1077-86.

259. Sarkar A, Mandal S. Bifidobacteria—Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. Microbiological research. 2016;192:159-71.

260. Gleeson J. Diet, food components and the intestinal barrier. Nutrition Bulletin. 2017;42(2):123-31.

261. Lee I-C, Tomita S, Kleerebezem M, Bron PA. The quest for probiotic effector molecules—unraveling strain specificity at the molecular level. Pharmacological research. 2013;69(1):61-74.

262. Kitazawa H, Villena J, Alvarez S. Probiotics: immunobiotics and immunogenics: CRC Press; 2013.

263. Boirivant M, Strober W. The mechanism of action of probiotics. *Current opinion in gastroenterology*. 2007;23(6):679-92.
264. Kleerebezem M, Binda S, Bron PA, Gross G, Hill C, van Hylckama Vlieg JE, et al. Understanding mode of action can drive the translational pipeline towards more reliable health benefits for probiotics. *Current opinion in biotechnology*. 2019;56:55-60.
265. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *The Lancet infectious diseases*. 2006;6(6):374-82.
266. Pillai A, Nelson RL. Probiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated colitis in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2008(1).
267. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *The Lancet*. 2007;369(9573):1614-20.
268. Hedin C, Whelan K, Lindsay JO. Evidence for the use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2007;66(3):307-15.
269. Rafter J, Bennett M, Caderni G, Clune Y, Hughes R, Karlsson PC, et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;85(2):488-96.
270. Camilleri M. Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms, and evidence of clinical efficacy. *Journal of clinical gastroenterology*. 2006;40(3):264-9.
271. Sheil B, Shanahan F, O'Mahony L. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. *The Journal of nutrition*. 2007;137(3):819S-24S.
272. Kelesidis T, Pothoulakis C. Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therap Adv Gastroenterol*. 2012;5(2):111-25.
273. Veerappan GR, Betteridge J, Young PE. Probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease. *Current gastroenterology reports*. 2012;14(4):324-33.
274. Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Journal of food science and technology*. 2015;52(12):7577-87.
275. Rafter J. Lactic acid bacteria and cancer: mechanistic perspective. *British Journal of Nutrition*. 2002;88(S1):S89-S94.

276. Kumar M, Kumar A, Nagpal R, Mohania D, Behare P, Verma V, et al. Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *International journal of food sciences and nutrition*. 2010;61(5):473-96.
277. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of applied microbiology*. 2006;100(6):1171-85.
278. Rupa P, Mine Y. Recent advances in the role of probiotics in human inflammation and gut health. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(34):8249-56.
279. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2001;357(9262):1076-9.
280. Schreck Bird A, Gregory PJ, Jalloh MA, Risoldi Cochrane Z, Hein DJ. Probiotics for the treatment of infantile colic: a systematic review. *Journal of pharmacy practice*. 2017;30(3):366-74.
281. Sung V, D'Amico F, Cabana MD, Chau K, Koren G, Savino F, et al. *Lactobacillus reuteri* to treat infant colic: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2018;141(1).
282. Gill HS, Guarner F. Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgraduate medical journal*. 2004;80(947):516-26.
283. Manzoni P, De Luca D, Stronati M, Jacqz-Aigrain E, Ruffinazzi G, Luparia M, et al. Prevention of nosocomial infections in neonatal intensive care units. *American journal of perinatology*. 2013;30(02):081-8.
284. Biasucci G. Gut perturbation and probiotics in neonatology. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)*. 2018;7(2):e070202.
285. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*. 2014;9(3):584-671.
286. Athalye-Jape G, Deshpande G, Rao S, Patole S. Benefits of probiotics on enteral nutrition in preterm neonates: a systematic review. *The American journal of clinical nutrition*. 2014;100(6):1508-19.
287. Aceti A, Maggio L, Beghetti I, Gori D, Barone G, Callegari ML, et al. Probiotics prevent late-onset sepsis in human milk-fed, very low birth weight preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2017;9(8):904.

288. Rao SC, Athalye-Jape GK, Deshpande GC, Simmer KN, Patole SK. Probiotic supplementation and late-onset sepsis in preterm infants: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2016;137(3).
289. Cavallaro G, Villamor-Martínez E, Filippi L, Mosca F, Villamor E. Probiotic supplementation in preterm infants does not affect the risk of retinopathy of prematurity: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-9.
290. Villamor-Martínez E, Pierro M, Cavallaro G, Mosca F, Kramer B, Villamor E. Probiotic supplementation in preterm infants does not affect the risk of bronchopulmonary dysplasia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2017;9(11):1197.
291. Sun J, Marwah G, Westgarth M, Buys N, Ellwood D, Gray PH. Effects of probiotics on necrotizing enterocolitis, sepsis, intraventricular hemorrhage, mortality, length of hospital stay, and weight gain in very preterm infants: a meta-analysis. *Advances in nutrition*. 2017;8(5):749-63.
292. Manzoni P, Lista G, Gallo E, Marangione P, Priolo C, Fontana P, et al. Routine *Lactobacillus rhamnosus* GG administration in VLBW infants: a retrospective, 6-year cohort study. *Early human development*. 2011;87:S35-S8.
293. Lin H-C, Su B-H, Chen A-C, Lin T-W, Tsai C-H, Yeh T-F, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2005;115(1):1-4.
294. Dani C, Coviello C, Corsini I, Arena F, Antonelli A, Rossolini GM. *Lactobacillus* sepsis and probiotic therapy in newborns: two new cases and literature review. *AJP reports*. 2016;6(1):e25.
295. Kültürsay N. Prematüre bebeklerde nekrotizan enterokolitten korunma amacı ile probiyotik kullanımı. *Cocuk Sagligi ve Hastaliklari Dergisi*. 2012;55(4).
296. Drago L, Mattina R, De Vecchi E, Toscano M. Phenotypic and genotypic antibiotic resistance in some probiotics proposed for medical use. 2013.
297. Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, Urbanek R. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics*. 2008;121(4):e850-e6.
298. Laboratory BT. Human D-lactic Acid ELISA kit. Available from: <http://www.bt-laboratory.com/product/human-d-lactic-acid-elisa-kit/>.
299. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular microbiology*. 2014;16(7):1024-33.

300. Kuppala VS, Meinen-Derr J, Morrow AL, Schibler KR. Prolonged initial empirical antibiotic treatment is associated with adverse outcomes in premature infants. *The Journal of pediatrics*. 2011;159(5):720-5.
301. Esaiassen E, Fjalstad JW, Juvet LK, van den Anker JN, Klingenberg C. Antibiotic exposure in neonates and early adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2017;72(7):1858-70.
302. Nielsen C, Lindholt JS, Erlandsen EJ, Mortensen FV. d-lactate as a marker of venous-induced intestinal ischemia: An experimental study in pigs. *International Journal of Surgery*. 2011;9(5):428-32.
303. Al-Dahhan J, Stimmler L, Chantler C, Haycock GB. Urinary creatinine excretion in the newborn. *Archives of disease in childhood*. 1988;63(4):398-402.
304. Go H, Momoi N, Kashiwabara N, Haneda K, Chishiki M, Imamura T, et al. Neonatal and maternal serum creatinine levels during the early postnatal period in preterm and term infants. *PloS one*. 2018;13(5):e0196721.
305. Lao TT, Loong EPL, Chin RKH, Lam YM. Renal Function in the Newborn. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 1989;28(2):70-2.
306. Corpino M. Microbiota and probiotics. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)*. 2017;6(2):e060205-e.
307. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2014;58(4):531-9.
308. Yilmaz B, Schibli S, Macpherson AJ, Sokollik C. D-lactic Acidosis: Successful Suppression of D-lactate-Producing *Lactobacillus* by Probiotics. *Pediatrics*. 2018;142(3).
309. Connolly E, Abrahamsson T, Bjorksten B. Safety of D(-)-lactic acid producing bacteria in the human infant. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2005;41(4):489-92.
310. Haschke-Becher E, Brunser O, Cruchet S, Gotteland M, Haschke F, Bachmann C. Urinary D-lactate excretion in infants receiving *Lactobacillus johnsonii* with formula. *Annals of nutrition & metabolism*. 2008;53(3-4):240-4.
311. Papagaroufalis K, Fotiou A, Egli D, Tran LA, Steenhout P. A Randomized Double Blind Controlled Safety Trial Evaluating d-Lactic Acid Production in Healthy Infants Fed a *Lactobacillus reuteri*-containing Formula. *Nutrition and metabolic insights*. 2014;7:19-27.

312. Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, Saxelin M, Vaara M, Ruutu P, et al. Lactobacillus bacteremia during a rapid increase in probiotic use of Lactobacillus rhamnosus GG in Finland. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2002;35(10):1155-60.
313. Stansbridge EM, Walker V, Hall MA, Smith SL, Millar MR, Bacon C, et al. Effects of feeding premature infants with Lactobacillus GG on gut fermentation. *Archives of disease in childhood*. 1993;69(5 Spec No):488-92.

8. EKLER

Ek 1. Çalışma vaka kayıt formu

ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ ALAN YENİDOĞANLARDA PROBİYOTİK DESTEĞİNİN İDRAR D-LAKTİK ASİT DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELEMESİ (Dr. H. Tolga Çelik, Dr. Yağmur Tabur , Prof. Dr. Samiye Yabanoğlu Çiftçi)			
Hasta No		Yattığı servis	37 / 39 / 82 BO
Doğum / Yatış tarihi			
Cinsiyet		Neonatal Tanılar:	
Anne yaşı		Sepsis	
Gravida/Parite/Yaşayan		İHB	
Spontan / IVF Gebelik		NEK	
Gebelik haftası		TTN	
Doğum ağırlığı gr (p)		RDS	
Baş çevresi cm (p)		Konj. Pnömoni	
CS / NSVY			
APGAR (1/5/10.dk)			
Zor/travmatik doğum			
Resüsitasyon			
		Beslenme:	
İlaç		Anne sütü	
Sigara / Alkol		TPN	
Prenatal testler		Formula	
Annenin hastalıkları			
		Probiyotik Desteği	
USG			
		Aldığı tedaviler	
Poli / Oligohidramnios			
EMR		Antibiyotikler ve süresi	
Koryoamnionit			
Mekonyum		MV tedavisi	
Fizik muayene		O2 tedavisi	
		Varsa kültür üremeleri	
Akrabalık			
Ailede hastalık öyküsü		0. gün idrar D-laktat düzeyi:	
		Antibiyotik tedavisi bitimde İdrar D-laktat:	
Kardeş öyküsü			
		Taburculuk sonrası 4.hafta idrar D-laktat:	

