



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TANISAL AMAÇLA UYGULANAN LAPAROSKOPI
SIRASINDA OLUŞAN BAKTERİYEL
TRANSLOKASYONA PROBİYOTİK BAKTERİLERİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Selda ACAR

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. İdris ŞAHİN**

DÜZCE-2008



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TANISAL AMAÇLA UYGULANAN LAPAROSKOPI
SIRASINDA OLUŞAN BAKTERİYEL
TRANSLOKASYONA PROBİYOTİK BAKTERİLERİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Selda ACAR

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. İdris ŞAHİN**

DÜZCE-2008

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. A.Demet Kaya'ya;

Gerek eğitimim gerekse tez hazırlama dönemim boyunca her zaman her konuda desteğini gördüğüm kişiliği, bilgisi ve deneyimleriyle her zaman bana destek olan, yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. İdris Şahin'e;

Asistanlık eğitimime katkıda bulunan hocalarımız Doç. Dr. C. Elif Öztürk ve Doç. Dr. M. Tefvik Yavuz 'a;

Tezimin hazırlanması aşamasında yardımını ve dostluğunu esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. İsmet Özaydın'a;

İhtisas sürem boyunca ve tezimin hazırlanması sırasında yardımlarını ve dostluğunu esirgemeyen Dr. Çiğdem Özaydın'a;

Tez hazırlamam sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Adem Küçük'e, Dr. Banu Çerçi'ye, Bio. Uğur Öz'e, Bio. Arif Kızılırmak'a ve teknisyen Sadettin Tanrıver'e;

Berber çalıştığımız, deneyim, sabır ve dostluklarını benden esirgemeyen biyologlarımız Ziya Erdoğan'a, Seda Karaman'a, Fulya Özaras'a ve teknisyenlerimiz Cemal Şahin'e, Gülnihan Karaduman'a, Emine Korkmaz'a, Yonca Öztürk'e;

Bugünlere gelmemde hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tüm kararlarımda yanımda olan anneme, babama ve her konuda desteklerini esirgemeyen ablam ve abime, varlıklarıyla bana güç veren yeğenlerime;

Sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Selda ACAR

Düzce - 2008

İÇİNDEKİLER

1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Bağırsak Mikroflorası	3
2.1.1. Gastrointestinal Mikrofloranın İşlevleri	5
2.1.2. Normal Bağırsak Bariyer Mekanizmaları	6
2.2. Bakteriyel Translokasyon	7
2.1.1. Barsak Bariyerinin Yaralanma Mekanizması	8
2.2.2. Bakteriyel Translokasyonun Mekanizması ve Yönü	10
2.2.3. Bakteriyel Translokasyon Ölçümü	11
2.2.4. Fizyolojik ve Hastalıkla İlişkili Bakteriyel Translokasyon	12
2.2.5. Bakteriyel Translokasyonun Klinik Etkinliği ve Kanıtları	13
2.2.6. Bazı Hastalıklarda Bakteriyel Translokasyon: Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu ve Multiple Organ Disfonksiyon Sendromu	14
2.2.7. Bakteriyel Translokasyon ve Akut Pankreatit	15
2.2.8. Bakteriyel Translokasyon ve Siroz	16
2.3. Probiyotikler	17
2.3.1. Tanım	17
2.3.2. Tarihçe	18
2.3.3. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	18
2.3.4. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranılan Özellikler	20
2.3.5. <i>Lactobacillaceae</i> familyası	20
2.3.6. <i>Bifidobacterium</i> genusu	21
2.3.7. Probiyotiklerin Etki mekanizmaları	21
2.3.8. Probiyotiklerin Bakteriyel Translokasyona Etkisi	26
2.3.9. Probiyotiklerin Tedavide Kullanım Alanları	26
2.3.10. Yan Etki ve Komplikasyon	27
2.3.11. Probiyotik Etki için Tüketim Seviyesi	27
2.3.12. Probiyotik Ürünler	28

3. Gereç ve Yöntemler	29
3.1. Deneklerin Sınıflandırılması	29
3.2. Peritonit Oluşturmak Amacıyla <i>E.coli</i> Preparasyonu	30
3.3. Cerrahi Yöntem (Laparoskopi Uygulanması)	30
3.4. Örneklerin Elde Edilmesi	32
3.5. Mikrobiyolojik Analiz	34
3.6. Çalışmada Kullanılan Bakteriyolojik Besiyerleri	36
3.7. İstatistiksel Analiz	37
4. Bulgular	38
5. Tartışma	48
6. Sonuçlar	57
7. Özet	58
8. Summary	59
9. Kaynaklar	60
10. Resimlemeler Listesi	68
11. Özgeçmiş	69

KISALTMALAR

ARDS: Akut Solunum Zorluğu Sendromu

ATP: Adenozin Trifosfat

BT: Bakteriyel Translokasyon

CFU: Colony Forming Unit

CO₂: Karbondioksit

DNA: Deoksiribonükleik Asit

E.coli: *Escherichia coli*

EMB: Eosin Methylen Blue

FDA: Food and Drug Administration

GALT: Bağırsakla Bağlantılı Lenf Dokusu

GİS: Gastrointestinal Sistem

GRAS: Generally Recognised as Safe

IgA: Immunglobulin A

L. acidophilus: *Lactobacillus acidophilus*

L. plantarum 299V: *Lactobacillus plantarum 299V*

MLN: Mezenter Lenf Nodu

MODS: Multi Organ Disfonksiyon Sendromu

NO: Nitrik Oksid

PCR: Polimerase Chain Reaction

PNL: Polimorfonükleer Lökosit

RES: Retiküloendotelyal Sistem

S. boulardii: *Saccharomyces boulardii*

SIRS: Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

TLR: Toll-like Reseptör

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Laparoskopik kolosistektominin 1987'de Philip Mouret tarafından ilk kez başarıyla uygulamasından sonra, laparoskopik cerrahi hızla gelişmiş ve çeşitli karın içi girişimleri laparoskopik yolla güvenle uygulanır hale gelmiştir. ¹

Laparoskopik ameliyatlarda yaygınlaştıkça laparoskopiyeye ait bazı sorunlar da ortaya çıkmaya başlamıştır. Bunların başında pnömoperiton esnasında kullanılan karbondioksit (CO₂) ve oluşturulan intraabdominal basınca ait yan etkiler gelmektedir.²

Yapılan çalışmalar, laparoskopik ameliyatlarda kullanılan CO₂ gazının hiperkapni, asidoz, myokardiyal aritmi ve ağrı gibi bilinen yan etkilerine ek olarak, akut apandisit, akut kolesistit ve peptik ülser perforasyonu gibi peritonitli batınlarda bakteriyemi ve bakteriyel translokasyonu (BT) arttırdığını göstermiş ve bu nedenle CO₂ gazına alternatif gaz arayışları gündeme getirmiştir. ³

Gastrointestinal sistem (GİS) içindeki bakterilerin mezenter lenf nodu (MLN), dalak, karaciğer, böbrek, peritoneal kavite ve kan gibi steril ekstraintestinal ortamlara geçmesi bakteriyel translokasyon olarak tanımlanmakta ve bunun da, mortalitesi yaklaşık %70 olan multipl organ yetmezliğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. ⁴

Bu geçiş normal şartlarda gerçekleşmemektedir. Yanık, açlık, travma, cerrahi, barsak tıkanıklığı, safra yolu tıkanıklığı gibi durumlarda barsak mukoza bütünlüğü ve bariyer fonksiyonunun bozulması, bakterilerin absorpsiyonunu artırarak barsak dışına çıkmasına ve başka organlara bakteri translokasyonuna neden olmaktadır. ⁵

Tam olarak nedeni açıklanamayan ve intestinal kaynaklı patojenlerin oluşturduğu sepsis vakalarında BT sorumlu tutulmuştur. ⁶ Bu nedenle birçok araştırmacı tarafından, hem BT'un mekanizmalarını ortaya koymaya, hem de bu mekanizmaları önlemeye yönelik klinik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaktadır. ^{5,6}

Bu amaçla, son yıllarda üzerinde sık çalışılan, fizyolojik aktif öğeler olarak tanımlanan ve fonksiyonel besinler arasında yer alan probiyotik denilen canlı

mikroorganizmalar gündeme gelmiştir. ⁷ Probiyotik bakteriler, GİS'in normal florasında bulunmaları yanı sıra, fermente edilmiş yiyecekler ile de alınmaktadır. ⁸

Probiyotikler, patojen olmayan mikroorganizmalar olup, mikrobiyal dengeyi geliştirip, zenginleştirerek flora katkıda bulunurlar. Özellikle barsak mukozası ve immünite üzerine olan etkilerinin BT'a neden olabilecek durumların varlığında, koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir. ⁷

Bu çalışmada, tanısal amaçlı olarak yapılan invaziv bir girişim olan laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ insüflasyonu ile oluşabilecek BT'nu belirlemek, uygulanan farklı CO₂ basıncının BT'na etkisini ve son yıllarda gündemde olan probiyotiklerin BT'na etkisi araştırmak amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağırsak Mikroflorası

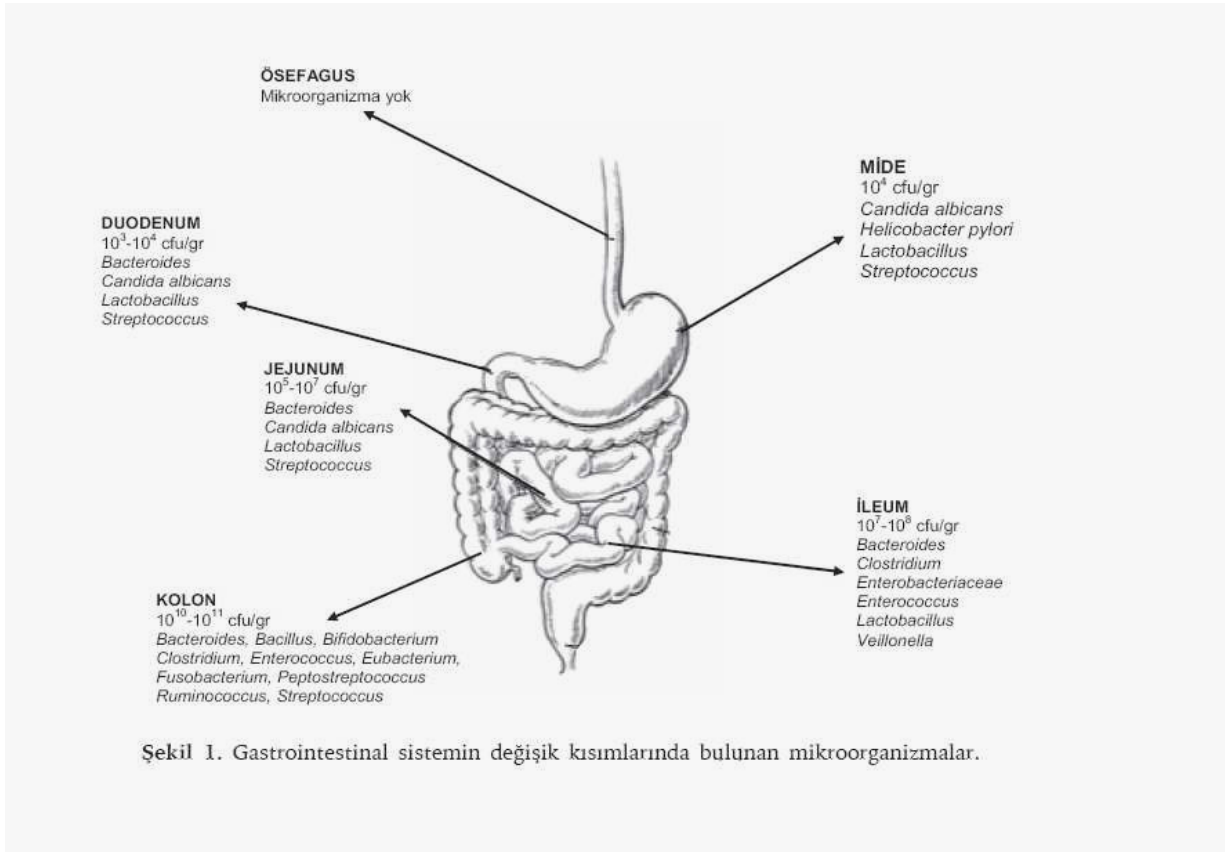
İnsan vücudunda ökaryotik hücre sayısının (10^{13}) 10–20 katı kadar prokaryotik hücre (10^{14}) bulunmaktadır. Sağlıklı bireylerin bağırsaklarındaki mikroorganizma türü sayısı yaklaşık olarak 500'dür. Vücudumuza yararlı olan bu mikroorganizmalar zararlı mikroorganizmaları kontrol altında tutar, sindirim ve besin ögesi emilimine yardımcı olur ve immün fonksiyonların düzenlenmesine katkıda bulunur.⁹

İntestinal mikroflora ve konak arasında, intestinal inflamatuvar yanıtın (fizyolojik inflamasyon) immünolojik bir denge içinde sürdürülmesini sağlayan karşılıklı bir etkileşim vardır.¹⁰ Normalde barsak mukozasının kalıtsal olarak sahip olduğu yapısal ve fonksiyonel özellikleri, lümendeki bakterilerin mukozaya kolonize olmalarına ve barsak duvarını invaze etmelerine engel olur.¹¹

Normal floranın oluşumu kompleks bir süreçtir. Bu süreci etkileyen başlıca faktörler doğum yöntemi, diyet, mikrop-mikrop ve mikrop-konak ilişkileridir.¹² Kolonizasyon doğumdan hemen sonra başlar ve aşamalı bir gelişim gösterir. Başlangıçta doğum şekli ve daha sonra beslenme şekli GİS florasını oluşturacak olan bakterilerin türünü belirleyen faktörlerdir. Annenin bağırsak ve vajina florası yenidoğan barsak florasını oluşturan asıl kaynaktır. Floraya başlangıçta fakültatif anaeroplara hakimdir. Daha sonra beslenme şekline göre değişiklikler görülür. Anne sütü ile beslenenlerde bifidobakteriler artarken, formül mamalarla beslenenlerde *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. ve streptokoklardan oluşan daha kompleks bir flora gelişir. Florayı ilk oluşturan bakteriler konak epitel hücrelerindeki gen ifadesini düzenleyebilir ve kendileri için uygun bir ortam oluşturup floraya dahil olan diğer bakterilerin gelişmesini engelleyebilirler. Bu nedenle ilk kolonizasyon erişkin flora içeriğini belirleyen önemli bir etkidir.¹³ GİS, intestinal mikroflora ve konakçı arasında hassas bir dengede olan kompleks bir ekosistemdir.

¹⁴ Barsak florasındaki aerob mikroorganizmaların anaeroplara oranı 1/1000'dir.

Barsak normal florasında bulunan anaerop bakterilerin içinde patojen olmayanların yanı sıra insanda hastalık etkeni olabilecek anaerop türleri de vardır. *Bifidobacterium* türleri ve *Bacteroides fragilis*'in 1 gr dışkıdaki miktarı 10^{10} - 10^{11} kadardır. Buna karşın aerop bakterilerden enterobakterilerin sayısı 10^6 - 10^7 dir. Ağızda fakültatif anaeroplara ve anaeroplara (*Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp.) ve mantarlar bulunur. Özofagusta önemli mikrobiyal kolonizasyon yoktur. Mide ve duodenumda 10^4 cfu/g *Candida albicans*, *Bacteroides* spp., *Lactobacillus* spp., streptokoklar bulunur. *Helicobacter pylori* gastrik içeriğe adapte olmuştur. ¹⁵ İnce bağırsağın mideye yakın bölgesinde anaerop bakteri sayısı azalır. Jejunumda az sayıda anaerop çomak şeklindeki bakteriler bulunursa da, bu bölgenin florasını maya, laktobasil, alfa-hemolitik streptokok gibi fakültatif anaerop Gram pozitif mikroorganizmalar oluşturur. Jejunumdan ileuma doğru ilerledikçe mikroorganizmaların tür ve sayılarında artış görülür. İleumun başlangıcında anaerop ve aerop organizmalar eşit sayıdadır. Bağırsağın bu bölümünde anaerop bakterilerin sayısı ortalama olarak 10^8 /ml'dir. ¹³ GİS'in değişik kısımlarında bulunan mikroorganizmalar Şekil-1'de gösterilmiştir. ¹⁶



2.1.1.Gastrointestinal Mikrofloranın İşlevleri

Günümüzde, normal insan mikroflorasının eksojen patojen mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı bir bariyer olarak önemli olduğu bilinmektedir.¹⁷ Normal mikroflora; özellikle çok yoğun ve farklı bakterinin bulunduğu GİS florası, konağın birçok biyokimyasal, fizyolojik ve immunolojik özelliklerini etkilemektedir.¹⁸

Bu işlevleri 3 ana başlık altında toplayabiliriz:

a. Koruyucu işlevleri: Flora bakterileri eksojen bakterilerin kolonizasyonunu ve patojen bakterilerin dokuya invazyonunu engellerler (kolonizasyon direnci).^{14,19} Mikroflora, intestinal mukozanın bariyer işlevini güçlendirir, patojenik mikroorganizmaların tutunmasının ve allerjenlerin girişinin engellenmesine yardımcı olur.²⁰ Ayrıca mikroorganizmalar arası olumsuz ilişkilerden (rekabet, parazitlik) kaynaklanan direkt etki de kolonizasyon direncine katkıda bulunmaktadır.¹³ Floradaki değişiklikler immünolojik dengeyi değiştirebilmektedir. Bağırsak florasını oluşturan bakterilerin bir kısmı fırsatçı patojendirler ve bağırsakların oluşturduğu fiziksel ve fonksiyonel bariyer bütünlüğü kayb olduğu zaman infeksiyon ve sepsis kaynağı olabilirler.^{14,19}

b. Metabolik işlevleri: Kolonik floranın ana fonksiyonu sindirilmemiş gıda artıklarının ve epitel hücreleri tarafından oluşturulan mukusun fermentasyonudur. Karbonhidratların fermentasyonu kolonda mikroorganizmalar ve kolonositler için ana enerji kaynağıdır. Anaerobik metabolizasyonun son ürünü kısa zincirli yağ asitleridir. Bunun yanı sıra toksik etkileri olabilen amonyak, amin, fenol, tiol, ve indollerde oluşur. Sağ kolon ve çekum bu metabolizmanın esas gerçekleştiği yerdir. Kısa zincirli yağ asitlerinin fazla miktarda üretimi ile burada pH 5–6 düzeyindedir ve bakteri çoğalması için uygun bir ortamdır. Sol kolon ve distalinde ise pH nötrale yakındır ve bakteri popülasyonu daha stabildir. Kolonik flora vitamin sentezi, kalsiyum, magnezyum ve demir emiliminde de rol oynar. Bütirik asit üretimi kolonositler için ana enerji kaynağıdır.¹⁴

c. Uyarıcı işlevleri: Kısa zincirli yağ asitleri, bağırsak epitelyum hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasını stimüle etmektedir. Florayı oluşturan mikroorganizmalar bağırsak lenfoid dokusunun oluşumuna da katkıda bulunurlar. Yaşamın erken

dönemlerinde flora ile bağırsak lenfoid dokusu arasındaki etkileşim immün sistemin gelişimine katkıda bulunmaktadır. ¹⁴ Barsak mikroflorası; immun sistem maturasyonu, normal intestinal morfolojinin gelişmesi ve immunolojik olarak inflamatuvar yanıtın dengelenmesinde önemli rol almaktadır. Flora bakterileri ile bağırsak epitel hücreleri ve intestinal lenfoid doku arasında devamlı bir etkileşim söz konusudur. Bağırsak bakterileri “Toll-like reseptörler” (TLR) ve “nucleotide-binding oligomerization domain” proteinleri tarafından tanınırlar. Bakteri hücre duvarı lipopolisakkaritleri, peptidoglikanlar, bakteriyal flajellin ve metillenmemiş bakteri deoksiribonükleik asit (DNA)'ları bu reseptörler aracılığı ile ayırt edilirler. Patojen bakteriler bu reseptörler aracılığı ile inflamasyon başlatırken, patojen olmayanlar başlatmamaktadır. Bu ayırmada dendritik hücrelerin de rolü olduğu düşünülmektedir. Dendritik hücreler, B hücreleri tarafından Immunglobulin A (IgA) yapımını arttırmakta; IgA ise bağırsak hücrelerine translokasyonu azaltmaktadır. ¹³

2.1. 2. Normal Barsak Bariyer Mekanizmaları

İnsan barsak mikroflorası yaklaşık 300 ile 500 arası farklı türden bakteri türünden oluşmaktadır. Üst GİS, sadece birkaç tür bakteri içermektedir. Bakteriyel üremeyi önleyici etkisi ve fazik itici motor aktivite nedeni ile bakterilerin bu lüminal ortamda kolonize olmaları zordur. Bunun aksine kolon lümeni çok yüksek konsantrasyonda canlı bakteri içermektedir ve fekal kitlenin büyük bölümünü (yaklaşık olarak %60) bakteriler oluşturmaktadır. ^{21,22}

Bazı koşullar altında, florada yer alan bakterilerin bir kısmı infeksiyon ve sepsis için potansiyel patojen olabilirler. Ancak konak ile bakteri arasındaki kommensal ilişkisi, insan organizmasının sağlıklı olmasıyla doğrudan ilişkilidir. ²³

Hayvanlar kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, mikrofloranın önemli fizyolojik fonksiyonları olduğunu desteklemektedir. ²⁴ En önemli fonksiyonu sindirilemeyen besin kalıntılarının fermentasyonu ve intestinal mukusun kolonik mikroflora tarafından yapılmasıdır. Yine peptid ve proteinlerin anaerobik metabolizması ile oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin yapımı, K vitamini sentezi ve kalsiyum, magnezyum, demir emiliminde bu bakteriler önemli rol oynarlar. Aynı zamanda, barsağın epitelyal hücre proliferasyonu ve diferensiyasyonunda,

organizmanın konakçı mikroorganizmalar ile olan etkileşiminin de katkısı bulunmaktadır.²²

İntestinal mukoza, immün sistem ve intraluminal ortam arasında temel bir arayüzeydir. İntestinal mikrofloranın diğer bir önemli fonksiyonu, konağı dışardan gelen mikroorganizmalara karşı korumaktır. Patojenik olmayan bakteriler adezyon yaparak, patojen enteroinvaziv bakterilerin epitelyal hücrelerine yapışmasını ve girişini engelleyebilirler. Normal flora, besinsel rekabet ya da antimikrobiyal sentez boyunca patojenik bakteri üremesini inhibe edebilir.²²

İntestinal mukozal bariyerin yapısal organizasyonu ve geçirgenlik mekanizması BT'u anlamada temel faktördür. Epitelyal hücreler arasındaki bağlantıyı "tight junction"lar sağlar ve selektif parasellüler geçişe izin verirler.²¹

Bariyer fonksiyonu, normal intestinal flora (ekolojik bariyer), müköz epitel (mekanik bariyer), sekretuar IgA ve immün sistem hücrelerine (immün bariyer) bağlıdır. Böylece mukoza ve mukus tabakası savunucu faktörler içerirler. Epitelyal sekresyonlar, immünkompetan hücreler ve yeterli mukozal kan akımı barsağın bariyer fonksiyonunda rol oynamaktadır.²² İntestinal mukozal bariyer, lüminal makromoleküller ve mikroorganizmalara karşı hem immünolojik hem de non-immünolojik savunma mekanizmalarını içerir. Epitelyal bariyer mikromoleküller için seçici geçirgendir ancak makromoleküllerin geçişini tamamen sınırlar. Bariyerin muhafazası, sellüler plazma membranlarının bütünlüğüne, "tight junction"lara, ek olarak endotelial ve epitelyal ürünlere bağlıdır.^{21,24}

2.2. Bakteriyel Translokasyon

Yaklaşık 200 m² olan barsak lümen yüzeyinde ml başına tahmini bakteriyel konsantrasyon 10¹² kadardır²⁵ ve bu ortam ile steril kan akımı arasındaki tek bariyer sadece tek hücreli epitelyal tabakadır.

19.yüzyılın son dönemlerinde araştırmacıların savundukları teori; sepsis ve peritonitin, bakterilerin sağlam barsak duvarı boyunca geçişleri sonucu, barsaklardan kaynaklandığıdır.²⁶ Translokasyon hipotezini destekleyen deneysel bir çalışma serisi yapılmıştır. Hemorajik şoktaki köpeklerin peritoneal kavitesinde saptanan bakteriler,

bu hayvanların normal intestinal florasındaki bakterilerle aynı özellikte olarak tanımlanmıştır. Diğer çalışmalar da, barsak mikroflorasının sepsisten sorumlu olabileceğini desteklemiştir. Nazokomiyal infeksiyonlar, kan kültürleri ve cerrahi yaralarda izole edilen intestinal barsak bakterileri ile korelasyon göstermiş ve spontan bakteriyel peritoniti olan sirozlu hastaların assit sıvılarında ve kanlarında enterik mikroorganizmalar izole edilmiştir.²⁷

Bütün bu faktörler; Gram negatif ve Gram pozitif bakteri, fungus ve endotoksinlerin intestinal mukozal bariyeri geçebileceğinin kanıtları olmuştur.²⁶ Hiç şüphesiz ki barsak bakterileri sepsisten sorumludur, ancak translokasyon mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Bunun yanında BT, intestinal bakterilerin barsak mukozası boyunca normal steril dokulara invaze olması olarak tanımlanmıştır ve hastalık nedenidirler. Yeni bulgular bakterilerin intestinal epitelyal bariyeri kendi kendine geçmeye ihtiyaç duymadığını göstermiştir. İntestinal duvarda oluşan inflamatuvar bileşenlerin translokasyonu veya barsağın toksik ürünleri, sistemik hasarlardan (semptomlar) sorumlu olabilir. Bu görüş, intestinal permeabilite ile ilişkili BT tanımını genişletmiştir ve sadece bakteri pasajını içermemektedir. Ayrıca intestinal lümeden sirkülasyona geçen endotoksinler veya antijenler sistemik inflamasyon ve uzak organ hasarına neden olmaktadır.²⁷

2.1.1. Barsak Bariyerinin Yaralanma Mekanizması

Epitelyal hücrelerin hipoksik hasarı ve bunu takip eden reperfüzyon, BT oluşumunda major mekanizmayı içermektedir. Herhangi bir nedenle oluşan şok, travma, termal hasar bu prosesi başlatmaktadır. Böylece herhangi bir nedenle kan akımındaki azalma, doku oksijenasyonunda azalmaya yol açarak mukozal asidozise neden olur ve sonuç olarak epitelyal hücre hasarı oluşur. Asidozis, serbest oksijen radikallerinin oluşmasına bağlı olarak mukozal geçirgenliğin artışıyla sonuçlanır. Bu maddeler mukoza düzenini bozarak epitelyal geçişi artırırlar.^{22,24}

İskemi/reperfüzyon hasarının mekanizmaları komplekstir ve polimorfonükleer lökositlerin (PNL) aktivasyonu ile izlenen reaktif oksijen metabolitlerinin oluşan hasara aracılık ettiği bilinmektedir. İskemi, aerobik enerji metabolizmasını engeller ve hücre içi Adenozin trifosfat (ATP) seviyesinin düşmesine neden olur. Ksantin

dehidrojenazın büyük miktarı iskemi sırasında, kalsiyuma bağımlı proteolitik olaylar sayesinde Ksantin oksidaz'a dönüşür. Serbest oksijen radikallerinin oluşması ve mukozal hasarın nedeni, PNL'lerin direkt etkisi ve sekonder aktivasyonuna bağlı olarak gelişmektedir. Bunu barsak geçirgenliğinde artış takip etmektedir. Geri dönüşümsüz safhaya geçmeden önce reperfüzyon sağlandığında ve oksijen dokulara ilk kez geldiğinde mikrovasküler yaralanma, sellüler nekroz ve apoptozise yol açarak doku hasarını şiddetlendirebilir. Kan oksijen miktarı normale döndüğünde hücre içi kalsiyum düzeyi artar, fosfolipaz A2 aktivitesi artışı takiben araşidonik asit salınır. Araşidonik asit metabolizması sonucu, prostaglandinler, tromboksan, prostasiklinler ve lökotrienler oluşur. Bu maddeler, vazokonstrüksiyon, vazodilatasyon, vasküler geçişte artışa, trombosit agregasyon stimülasyonuna ve PNL'lerde kemotaksise neden olabilirler. Böylece iskemi ve reperfüzyon; mukozal bariyerin rüptürünü, BT ve inflamatuvar cevapların aktivasyonunu provoke etmektedir.

22,24

Ancak normal şartlarda, bakteriler intestinal epitel bariyerini geçmiş olsalar bile kan akımına ulaşmadan fagositler tarafından tahrip edilmektedirler. Bağırsakla Bağlantılı Lenf Dokusu (GALT) vücudumuzun en büyük immünolojik organıdır, lenf ve BT kontrolünde anahtar rol oynamaktadır. Böylece immüdisfonksiyon, BT'da diğer major faktördür.²⁴

Nitrik oksid (NO) aşırı üretimi, interlökin-6, *Escherichia coli* (*E.coli*) ve *Klebsiella pneumoniae* gibi kommensal bakteriler, alkol ve non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar gibi diğer faktörler, mukozal bariyeri ve geçirgenliğin artışı etkileyebilirler. NO, intestinal geçiş ve motilite için önemli olabilir ve güçlü antimikrobiyal özellikleri vardır. Böylece normal miktarlarda BT'ü önleyebilir, ancak endotelial canlılığın azalmasına yol açarak zararlı da olabilmektedir.²⁷

Deitch²⁸, barsak translokasyonunun üç aşamalı olabileceğini öne sürmüştür. İlk aşama; barsak yaralanması; hipoperfüzyon ve iskemiye yol açabilir. İkinci aşama; İntestinal mikrosirkülasyona nötrofillerin migrasyonu, lökositlerden sitokinlerin salınımı, GALT ve enterosit hasarı ile reperfüzyonun oluşmasıdır. Üçüncü aşama; barsak bariyer fonksiyon bütünlüğünün kaybıdır. Bu olaylar dizisi, bakteri ve intestinal endotoksilerin translokasyonuna ve immün hücrelerin ortaya çıkmasına neden olur. Bakterilerin çoğu fagosite edilir ve intestinal inflamatuvar cevaba katkıda bulunurlar. Ancak transloke bakterilerin bazıları ve toksik bileşenler, mezenterik lenf sistemine direne olurlar ve intestinal lenf nodlarında yakalanırlar.

2.2.2. Bakteriyel Translokasyonun Yönü

Yapılan çalışmalar, gastrointestinal geçirgenliğin BT'a neden olabileceği ile ilgili iki major yol ortaya koymaktadır: Bunlar enterositler boyunca transsellüler geçirgenlik ve tight junctionlar kullanılarak parasellüler geçiştir.²⁵

Transsellüler geçirgenlik: Spesifik enterosit kanalları ve membran pompalarının kontrolü altındadır.²⁷ Yapılan deneysel çalışmalar, ratların sağlam enterositlerinde *E.coli* ve *Proteus mirabilis* gibi canlı bakteriler içerdiğini göstermiştir. Bu bulgular mukozal bariyerin aktif bakteri invazyonu ve transsellüler pasajın kanıtlarını oluşturmaktadır.²⁹

Parasellüler geçirgenlik: Enterosit iskeletinin direkt yaralanması ve luminal osmalalite tight junctionlardan BT'ü etkilemektedir. Bunlar, aktin filamentlerinin ve mikrotübüllerin protein destek yapı bileşenleridir. Örneğin; sitotoksik kemoterapi, tight junction hasarı ile hiperpermeabiliteye neden olmaktadır. Makromoleküller, endotoksinler gibi subepitelyal mukozal tabakaya ulaşabilirler. Ancak BT, genellikle morfolojik olarak sağlam enterositlerde doğrudan ve transsellüler olarak meydana gelmektedir.²⁷

Bakteriyel bileşiklerin sistemik sirkülasyona girişini sağlayabilen 2 major yön vardır: portal vene, enterik venöz sistemin geçişi ya da lenfatik enterik direnaja. Yapılan ilk çalışmalarda; bakteriyel bileşenlerin intestinal subepitelyal kapillerden drene olarak, enterik venöz drenaj sonucunda portal vene geçtiği görülmüştür. Bunun BT yönünü işaret eden bir yol olduğu kabul edilmektedir.²⁷

Lenfatik yönün, translokasyonun başlıca yolu olabileceğini işaret eden inandırıcı kanıtlar ve araştırmalar vardır. Deneysel ve klinik çalışmalarda, MLN'da canlı bakteri tespit edilmiştir.²⁸ Abdominal infeksiyonun tedavisi için cerrahi gereken hastalarda yapılan önemli bir klinik çalışmada, MLN'da bakteri bulunan hastalarda septik komplikasyonlar daha yaygın olarak belirlenmiştir. Bu organizmaların septik durumdan sorumlu olduğu ve MLN'da saptanmasıyla korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.³⁰

2.2.3. Bakteriyel Translokasyon Ölçümü

BT'un saptanmasında, doğrudan veya dolaylı olarak translokasyonu ölçen yöntemler kullanılmaktadır. Normal steril MLN'da intestinal bakterilerin saptanması, BT'un direkt kanıtı olarak düşünülmektedir.^{30,31} Nitekim MLN örnekleri, deneysel ve klinik BT çalışmalarında sıklıkla kullanılan doku örnekleridir. Ancak BT'un gerçek oranını düşük derecede gösteren bir tekniktir. Radyoaktif işaretli bakteri kullanılarak uygulanan yöntemler, BT'u direkt olarak ölçebilmektedir ve MLN'da saptanamayacak kadar yetersiz bakteri olması durumunda bile BT'u gösterebilmektedir. Çünkü epitelyal bariyeri bozan bakterilerin çoğu GALT tarafından öldürülür.²⁷

Periferel ya da portal kan kültürlerinde hiç bakteri saptanamadığı durumlarda periferel kanda endotoksinlerin tespiti BT'u gösterebilmektedir. Bu indirekt bir belirleyicidir. PCR (Polimerase Chain Reaction) temelli en son yöntemler, kanda DNA tespitine dayanmaktadır. Bu metodlar intestinal BT'u değerlendirmek için kan kültürlerinden daha yüksek bir sensitiviteye sahiptir.²⁷

İntestinal geçirgenlik çeşitli tekniklerle değerlendirilebilir. Epitelden transsellüler ve parasellüler geçişi bilinen, mannitol ve laktuloz gibi metabolize olmayan şekerlerin oral verilmesinin sonucunda farklı üriner salgılarının değerlendirilmesi çoğunlukla BT tanısında kullanılır ve bu intestinal geçirgenliğin spesifik indeksini sağlar.^{32,33}

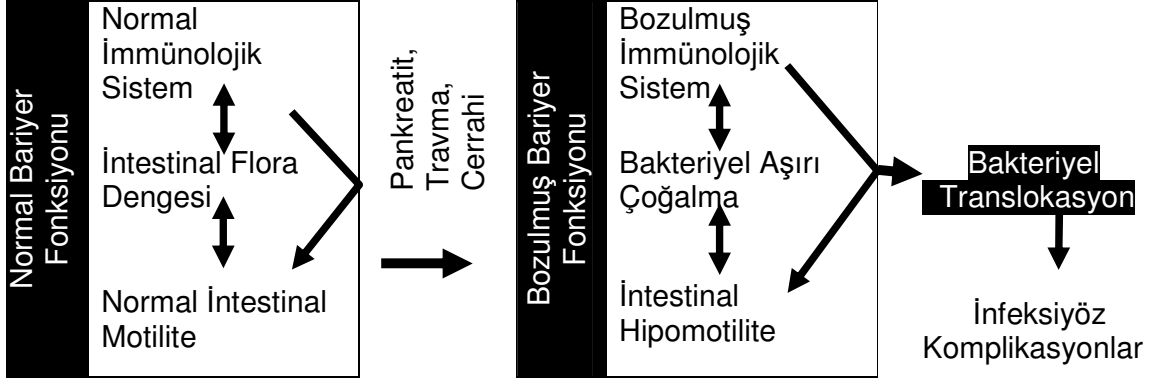
Geçirgenlik testleri, tepkimeye girmeyen şekerlerin (laktuloz ve mannitol) oral verilmesinden sonra üriner konsantrasyon oranlarının ölçülmesiyle uygulanır. Laktulozun büyük moleküllü yapısı nedeniyle, intestinal mukozal bariyeri parasellüler geçtiği bilinmektedir. Mannitol ise küçük moleküllüdür, transsellüler absorpsiyona neden olur.^{25,34} Oral verilmesinden sonra laktuloz ve mannitolün yüksek üriner dozları, mukozal bariyerin bütünlüğünün kaybını gösterir. Sonuç olarak, BT riskinin arttığı kabul edilmektedir. Bazı araştırmacılar BT'un indirekt gösterilmesini, geçirgenlik artışının izlenimleri olarak göz önünde bulundurmaktadırlar.³⁴ Yine de artmış intestinal geçirgenlik, BT oluşumunda tek faktör değildir. Çünkü hiperpermeabilite durumlarında BT daima ortaya çıkmaz. Nitekim yüksek intestinal geçirgenlik indeksinin BT oluşturduğu kanıtlanmamıştır.²⁷

2.2.4. Fizyolojik ve Hastalık ilişkili Bakteriyel Translokasyon

BT, normal fizyolojik bir olay olarak veya hasta bireylerde ortaya çıkabilmektedir. Çok küçük miktarlarda ölü ya da yaşayan bakterilerden endotoksinlerinin translokasyonu, özellikle karaciğerdeki Kupffer hücreleri olmak üzere büyük olasılıkla retiküloendotelial sistem (RES)'i fizyolojik olarak aktive etmektedir. İnsan çalışmalarında BT'un referans oranı %5-10'dur. Berg ²⁷, hayvanlarda yaklaşık olarak %10–20 gibi normal bir BT oranı saptamıştır. Bu insanlarda, hayvan modellerinden daha düşük sıklıkta BT olduğunu göstermektedir. Ancak, MODS ve intestinal iskemi gibi bozuklukta pozitif kültür oranı daha yüksek olarak saptanmaktadır. (%16–40).

Laktuloz ve mannitole artmış intestinal geçirgenlik, infeksiyonlu, yanıklı ³² ve şiddetli travmalı hastalarda dikkat çekmektedir. Ayrıca intestinal hiperpermeabilite, klinik bir çalışmada MODS'un habercisi olmuştur ve hiperpermeabilitenin derecesi ile ölüm arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. ²⁷

İnsanlarda BT'un, birkaç klinik durumda ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Bunlar özellikle BT'a yatkın faktörlerin varlığının bilindiği durumlardır. Örneğin; ince barsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma (motilite değişikliklerine sekonder, antibiyotik kullanımı, intestinal safra yokluğu gibi), barsak bariyerinin hasarı (şok gibi durumlarda intestinal mikrovasküler değişikliklerine sekonder, SIRS yada direkt hasar) ve sistemik immünsupresyon durumlarıdır. ²³ Hemorajik şok, akut pankreatit, siroz, obstrüktif sarılık, abdominal cerrahi, malignensi, kalp yetmezliği, aortik anevrizma tamiri, kardiopulmoner bypass ve barsak transplantasyonu gibi geniş bir hastalık grubunda da BT yaygın olarak saptanmaktadır. Ancak BT'un, hipotansiyon (hemorajik şok, travma ve major yanık hasarı) ya da şiddetli inflamatuvar cevap, intestinal obstrüksiyon, siroz, akut pankreatit gibi birkaç durumda infeksiyöz komplikasyonlarla ilişkisi olduğu görülmüştür (Şekil-2). ²⁷



Şekil-2. Normal ve bozulmuş intestinal bariyer fonksiyonu

2.2.5. Bakteriyel Translokasyonun Klinik Etkinliği ve Kanıtları

Yapılan çalışmalar, bağırsaktan MLN'a BT oranının seyrek olmadığını göstermiştir. Çeşitli klinik hastalarda, özellikle intestinal obstrüksiyon ya da Crohn's hastağı varlığında hastaların %4-59'unda BT ortaya çıkmaktadır. O'Boyle ve arkadaşları laparotomi geçiren büyük bir seri hastanın %15'inde MLN'ye BT'u gözlemlemişlerdir. BT'lu hastalarda, postoperatif sepsiste anlamlı yükseklik (%45) bulmuşlar ve bu hasta grubunda negatif MLN kültürleri saptanmışlardır (%19). MLN'da izole edilen organizmaları, klinik infeksiyonlardan sorumlu tutmuşlardır. Ancak, MLN'na BT olmuş hastaların çoğunda klinik infeksiyöz komplikasyonların olmamasına dayanarak, bazı durumlarda doğal olarak BT görülebileceğini ve immün sistemin tam fonksiyonel olduğu durumlarda klinik olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir. ³⁰

Sistemik infeksiyonda, rutin bakteriyel kültürlerle ters olarak bazen hastalıktan sorumlu bakterinin izolasyonu mümkün olmayabilir. ³⁴ Klinik semptomlardan sorumlu bileşenler bilinmektedir ve SIRS gelişmesinde bakteri mutlak değildir. ²⁸

Septik hastalarda meydana gelen Akut Solunum Zorluğu Sendromu'nda (ARDS) görülen akciğer hasarı BT ile korelasyon gözlenmektedir. Bu ilişkinin, mezenterik lenf akımının torasik duktus boyunca sistemik sirkülasyona ulaşması, subklavian venin superior vena cavaya drenajı, daha sonra sol atrium ve en son pulmoner artere akımıyla anatomik olarak açıklaması yapılmaktadır. Böylece

akciğerler, bağırsaktan lenf drenajına uğrayan ilk organdır. Travma-hemorajik şok uygulanan bir hayvan modelinde akciğer yaralanması sonrası akciğer dokusu, BT değerlendirilmesinde kullanılabilir.³¹

Akciğer hasarının, bağırsak dışında ana lenf duktusunun kesilmesiyle önlendiği gözlenmiştir. Portal kanda olmayan ama MLN'daki bu faktörler; nötrofillerin aktivitesine, endotel hücrelerin hasarlanmasına ve endotelial geçirgenliğin artmasına eğilim yaratan faktörlerdir. Mezenterik lenf sterildir ve bu faktörler nötrofil aktivasyonu, endotel hasarı ve hiperpermeabiliteye neden olmuş ama saptanamamışlardır. Yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların torasik lenf kanalından yapılan bir çalışmada tespit edilen sitokin ve sitokin reseptör antagonistlerinin seviyesi MODS'da daha yüksek olarak bulunmuştur. Bakteri izole edilememiştir ve endotoksin seviyeleri düşük olarak belirlenmiştir.³¹

2.2.6. Bazı Hastalıklarda Bakteriyel Translokasyon: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu ve Multi Organ Disfonksiyon Sendromu

Şiddetli strese karşı cevap olan SIRS, masif sitokin salınımı (tumor necrosis factor α ve İnterlökin-1), endotelial hücre yaralanması, doku ödemi, artmış doku geçirgenliği, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, platelet agregasyonu, lokal doku hipoksisiyle karakterizedir ve hipermetabolik bir durumdur. Şiddetli SIRS'ta, immünsüpresif bir durum oluşabilir, bu da daha şiddetli infeksiyonlara yol açabilir. MODS'da ve SIRS'ın patogeneziinde reperfüzyon ile hipoperfüzyon oluşabilmesi anahtar bir sonuçtur.²⁷

BT, SIRS'ın gelişiminde kritik bir durum olabilir. Fakat insan çalışmaları metodolojik problemlerin adresidir. Çünkü MLN'larının seri kültürleri insanlarda mümkün olmayabilir. Daha sık geçirgenlik çalışmaları yapılması, BT'un daha güvenilir ve spesifik belirteçlerinin kullanımı gerekmektedir.³⁵

MODS bir sendromdur ve birçok yoğun bakım ünitesinde epidemik oranı yükselmiştir. Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde ölümlerin yaygın bir nedenidir. Bütün yoğun bakım ünitelerindeki ölümlerin %50-80'den sorumludur ve tedavisi destekleyici tedavidir. Çünkü bu sendromun patofizyolojisi tam anlaşılammıştır. Kritik hastalarda bağırsak nedenli sepsisin başlıca hipotezi şok ve strestir. Bunlar bağırsak

yaralanmasına ve normal bağırsak bariyer fonksiyonunun kaybına yol açarak barsaklara kan akımını azaltmışlardır.³⁵ Bu barsak bariyer yetmezliği, bakterilere ve endotoksinler gibi toksik ürünlerine, bakterilerin barsaktan kaçışına ve sistemik sirkülasyona geçişine izin verir.²⁷ Bu nedenle MODS ve sistemik infeksiyona neden olur.²⁶ Birkaç insan çalışması; bağırsak bariyer fonksiyon yetmezliği, MODS ve sistemik infeksiyon gelişimi arasında korelasyon göstermiştir. Deneysel çalışmalar, hemorajik şok, travma, yada major yanık hasarı gibi durumlarda MLN'ye proinflamatuvar maddelerin ve doku hasarı faktörlerinin geçişi arttırdığını göstermiştir. Yine bu çalışmalar, BT ve bağırsakta biyolojik aktif moleküllerin yapımının MODS'tan sorumlu olabileceğini göstermektedir.³⁶

2.2.7. Bakteriyel Translokasyon ve Akut Pankreatit

Pankreatik infeksiyonların patogeneğinde, bağırsaktan nekroze dokuya BT'nun bazı kanıtları vardır.³⁷ Bakteri göçünün yönü aydınlatılamamıştır. Peritoneal kavite ya da retroperitoneuma daha sonrada pankreasa direkt transluminal migrasyon olabilir veya pankreasa lenfatik ya da hematojen yayılıma sekonder olabilir.³⁸ Akut pankreatitte BT'un patogenezi; incebağırsak hipomotilitesi, intestinal bakteriyel aşırı çoğalma, bağırsak bariyerinin rüptürü ve sistemik immüno-supresyon gibi bilinen bazı morfolojik ve fonksiyonel değişimlerle ilişkili olduğu sanılmaktadır.³⁹

İnce bağırsak motilitesi enterik bakteriyel popülasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan hayvan çalışmalarında sindirim sırasında motilite ve myoenterik aktivite arasında ilişki gösterilmiştir. Akut pankreatitin, ince barsak transit zamanında önemli bir gecikme ile sonuçlandığına dair kanıtlar vardır. Barsak motilitesini değiştiren akut pankreatitin mekanizması ise, akut pankreatit sırasında bazı gastrointestinal peptitlerin salınımının bozulmuş olmasıdır. Sonuç olarak transit zamanı gecikmesi özellikle ince barsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma ile sonuçlanır ki, bunlar da BT'na predispozan faktörlerdir.³⁹

Barsak mukozasının bütünlüğü, barsağın protektif mekanizmasında başlıca faktörlerden biridir. Bütünlüğün korunmasında, normal kan akımı tarafından besinlerin ve oksijenin yeterli dağıtımı gereklidir. Deneysel pankreatitlerin lokal ve sistemik mikrovasküler bozulmalarla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu da enterik villilerin

epiteli ve "tight junction"larda hasar ve oksijen dağılımında azalmayla sonuçlanmaktadır.³⁷ Lökosit ve makrofajlardan oksijen radikallerinin artması mikrosirkülasyon bozukluklarının nedenidir ve bu durum mukozal geçirgenlikte artışa yol açabilmektedir. MLN ve pankreasa transloke olan mikroorganizmaların enterik orjinleri bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Mukozal hasarın mekanizması iskemik hasar ile ilişkilidir ve mikrovasküler değişimle sonuçlanmaktadır.²⁷

İmmünsupresyon şiddetli akut pankreatitle ilişkilidir ve immün aracılı immünsupresyon, akut pankreatit sonrasında sekonder infeksiyonların gelişiminde önemli rol oynayabilir.⁴⁰ BT, hastalarda immünkompetan hücreler ile meydana geldiği zaman barsaktan bakteri göçü yıkıcı olabilmektedir ve akut pankreatit gibi immün sistemin bozukluklarında canlı bakteriler, pankreatik nekroza ve infeksiyöz komplikasyonların gelişimine neden olabilir.²⁷

Özetle, fonksiyonel ve morfolojik bozuklukların olduğu şiddetli akut pankreatit, patolojik BT ve pankreatik kontaminasyon ile ilişkili olabilir. Bunun nedenleri ise; barsak bariyer fonksiyonunda bozulma (morfolojik mukozal değişimler), intestinal bakteriyel çoğalma (intestinal hipomotiliteye sekonder) ve immünsupresyondur. Bu yüzden BT, akut pankreatitin infeksiyöz komplikasyonlarının oluşumunda anahtar rol oynar.²⁷

2.2.8. Bakteriyel Translokasyon ve Siroz

Sirozlu hastaların spontan bakteriyel peritonit, pnömoni, idrar yolu infeksiyonları ve bakteriyemi gibi hastalıklara duyarlılıkları artmıştır.⁴¹ Savunma mekanizmalarındaki bazı değişimler, komplikasyonların sıklığındaki yüksekliği açıklayabilir. Sirotik hastaların intestinal lümeninde IgA'nın sekresyonunda bir azalma, ince barsak motilitesinde azalma, hipoklorhidri olduğu görülmüştür. Bu faktörler intestinal bakteriyel aşırı çoğalmanın oluşumundan sorumlu olabilirler.²⁷

Sirotik hastaların 1/3'de intestinal hipomotilite vardır ve bu şiddetli hepatik disfonksiyonlu hastalarda çok önemlidir.²⁷ Ayrıca bazı çalışmalar, portal hipertansiyon varlığında intestinal mukozal geçirgenliğin arttığını göstermektedir.³³

İntestinal bakteriyel çoğalma, intestinal hipomotilite ve artmış mukozal geçirgenlik mekanizmaları artmış BT'ü göstermiştir. Sirotik hastalarda konak immün savunması zarar görmektedir, bu durum BT'a neden olabilen major bir mekanizmadır. ^{22,41}

Sirozdaki sepsisin kaynağının sadece BT olmamasına karşın, sirotik konakçıdaki bakterinin giriş yönünün önemli olduğu görülmektedir. ³³ BT, infeksiyöz komplikasyonlara neden olup, morbidite ve mortalite oranlarını etkilemektedir. ^{33,41}

Özetle, bakteriler ve ürünlerinin translokasyonu sağlıklı kişilerde doğal olarak meydana gelmektedir ancak klinik olarak patolojik durumların sıklığında artışa da neden olabilmektedir. BT'un birçok klinik tablonun patofizyolojik mekanizmasında yer aldığı bilinmektedir. Bununla birlikte pek çok vakada önemli olmayabilir. Mekanizmanın, barsak bariyer fonksiyonuyla ilişkili olduğunun anlaşılması, gelecekte yapılacak olan klinik çalışmaların değişik hastalıklardaki BT'un gerçek etkileri hakkında daha detaylı bilgi elde etmemizi sağlayacaktır. ²⁷

2.3. Probiyotikler

2.3.1.Tanım

Probiyotik ismi, iki Yunanca kelimedenden türetilmiştir; pros ve bios, yani yaşam için, yaşamı kolaylaştıran anlamlarına gelmektedir. ⁴² Besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyerek, bağırsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayarak konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen bu canlı mikroorganizmalara "probiyotik" adı verilir. ⁴³ İnsan gastrointestinal sistem florasında bulunan patojen olmayan, asit ve safraya dirençli ve geçici veya kalıcı olarak bağırsakta kolonize olabilen mikroorganizmalardır. ⁴⁴

2.3.2.Tarihçe

Laktik asit bakterileri ile ilgili ayrıntılı çalışmalara 1900'lü yılların başında başlansa da laktik asit bakterilerinin gıda fermantasyonundaki rolü 1857 yılında Pasteur tarafından bulunmuştur. *Bacterium lactis* 1873 yılında Lister tarafından izole edilen ilk saf bakteri kültürüdür. ⁴⁵

Bu yüzyılın başlarında Metchnikoff faydalı mikroorganizmalara dikkat çekerek ilk probiyotik kavramını öne sürmüştür. Metchnikoff, intestinal flora bakterilerinin protein hidrolizi sonucu oluşturduğu amonyak, aminler ve indol gibi maddelerin konakta otointoksikasyona neden olduğunu ve enerjisini protein hidrolizi yerine karbonhidrat fermantasyonundan sağlayan laktik asit bakterilerinin kullanımının faydalı sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Bu konuda yaptığı çalışmalar ile Nobel ödülünü kazanmıştır. Ancak, bilimsel olarak bu organizmaların tanımlanması yirminci yüzyılın başlarında mümkün olmuştur. ⁴⁶ 1921'de Rettger ve Chaplin, konstipasyon tedavisinde *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) suşlarını kullanarak faydalı sonuç alana kadar bakteriyel replasman tedavisi pek kabul görmemiştir. ⁴⁷ 1965'de Lilly ve Stillwell; birlikte kültürü yapılan iki mikroorganizmadan birinin ürettiği ve diğerinin üremesini stimüle eden maddelere 'probiyotik' demiştir. 1974'te Parker; hayvan yemlerinde bulunan ve bağırsak florasını etkileyerek hayvanda yararlı etki oluşturan maddelere probiyotik demiştir. 1989'da Fuller; "konak hayvanın mikrobiyal dengesini düzenleyerek yararlı etkiler oluşturan canlı mikrobiyal gıda maddeleri" şeklinde tanımlama yapmıştır. ^{46,47}

2.3.3. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotik ürünlerin üretiminde kullanılan mikroorganizmalar, FDA (Food and Drug Administration) tarafından GRAS (Generally Recognised as Safe) olarak tanımlanmış mikroorganizmalardır. ⁵¹ Probiyotikler esas olarak laktik asit bakterileridir. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo-1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

<i>Lactobacillus</i> Türleri	<i>L.bulgaricus, L.cellebiosus, L.delbrueckii, L.lactis, L.acidophilus, L.reuteri, L.brevis, L.casei, L.curvatus, L.fermentum, L.plantarum, L.johsonli, L.rhamnosus, L.helveticus, L.salivarius, L.gasseri</i>
<i>Bifidobacterium</i> Türleri	<i>B.adolescentis, B.bifidum, B.lactis, B.breve, B.infantis, B.longum, B.thermophilum</i>
<i>Bacillus</i> Türleri	<i>B. subtilis, B. pumilus, B. lentus, B. licheniformis, B. coagulans</i>
<i>Pediococcus</i> Türleri	<i>P.cerevisiae, P.acidilactici, P.pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i> Türleri	<i>S.cremoris, S.thermophilus, S.intermedius, S.lactis, S.diacetilactis, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium</i>
<i>Bacteriodes</i> Türleri	<i>B.capillus, B.suis, B.ruminicola, B.amylophilus</i>
<i>Propionibacterium</i> Türleri	<i>P.shermanii, P.freudenreichii</i>
<i>Leuconostoc</i> Türleri	<i>L.mesenteroides</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger, Aspergillus oryzae</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces boulardii</i>

Yoğurt oluşturan mikroorganizmalar olan *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* dışında tümü bağırsak florası elemanlarıdır. Bir probiyotik ürün bu mikroorganizmalardan birini veya birkaçını içerebilir. İçerdiği mikroorganizma sayısı arttıkça probiyotiğin kullanım alanı genişlemektedir. Probiyotik olarak hangi mikroorganizmanın seçileceği ürünün kullanılacağı konağa bağlıdır. Kullanılacak mikroorganizmanın o konağın flora elemanı olması gereklidir. ⁴⁷

Probiyotik olarak en yaygın kullanılan bakteriler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleridir.⁵⁰

2.3.4. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranan Özellikler

Bir mikroorganizmanın probiyotik özellikte olabilmesi için bu kriterlerden birkaçını içermesi gerekmektedir.

- . Güvenilir olmalıdır. Kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- . Sağlıklı insan bağırsağından alınmış olmalıdır.
- . Stabil olmalıdır. Düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.
- . Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve kolonize olabilmelidir.
- . Karsinojenik ve patojenik bakterilere antagonistik etki yapmalıdır.
- . Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- . Konakçıda hastalıklara direnç gibi yararlı etkiler oluşturabilmelidir.
- . Antibiyotiklere dirençli olmalıdır. Antibiyotiğe bağlı ortaya çıkan hastalıklarda (diyare) bağırsak florasını düzenlemek amacı ile kullanılabileceğinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- . Minimum etkin dozları bilinmediğinden canlı hücrelerde büyük miktarlarda bulunabilmelidir.
- . Üretim ve depolama sırasında canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir.
- . Patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir. Çok suşlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalıdır.
- . Probiyotik üretiminde kullanılan suşlar aktarılabılır antibiyotik direnç genleri içermemelidir.^{45,49}

2.3.5. *Lactobacillaceae* familyası

Lactobacillaceae familyası üyeleri doğada oldukça yaygındır. Hayvan ve insan barsağında, normal süt florasında bulunmaktadır. Basil şeklinde olan bu bakteriler,

düzgün çubuk, kokobasil veya uzun zincir oluşturan basil şeklinde bulunabilirler. Çok az tür veya suşun dışında hareketsizdirler. Gram pozitif reaksiyon veren bakteri, kültürlerin eskimesi ile Gram negatif ve uzun zincir görünümüne değişebilmektedir. Spor oluşturmeyen, anaerob veya mikroaerofil bakterilerdir. Üreme sıcaklıkları 5-55°C arasında değişebilir. Optimum üreme pH 5.5–5.8 aralığında görülmüştür. Patojen özellik göstermezler. Aksine oluşturdukları antibakteriyel özellikteki maddeler ile patojen ve saprofit bakterilerin gelişmesini engelledikleri düşünülmektedir. Lactobacillus genusunun taksonomisi tam olarak bilinmemekte ve bu genus içinde 50 tür, üç gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar, bakterinin laktozu fermente etme tiplerine göre oluşturulmuştur.⁵¹⁻⁵³

2.3.6. Bifidobacterium genusu

Actinomycetaceae familyası içinde bulunmaktadır.⁵¹ Bifidobakteriler, insan ve bazı hayvanların kalın barsak, ağız ve vajina normal florasında bulunmaktadır.^{51,52} Kolonda bu bakteri popülasyonu yaş ilerleyinceye kadar relatif olarak sabit kalırken diyet, antibiyotik kullanımı ve stres gibi faktörlerle zaman zaman değişim görülebilir.⁵¹ Yeni doğanlar, özellikle anne sütüyle doğumdan birkaç gün sonra bifidobakteriler ile kolonize olurlar. Bifidobakteriler anne sütüyle beslenen infantların feçeslerinden izole edilebilirler. Gram pozitif, anaerob, hareketsiz, sporsuz, morfolojik olarak farklı şekillerde görülebilirler.^{51,52} Adlarını, genellikle Y şeklinde ya da bifid formda olmalarından alırlar.⁵¹ Bifidobakterilerin insan kaynaklı olanlarının çoğu optimum 36–38 °C de gelişme gösterir. Bifidobakteriler pH 5–7 ortamda gelişebilen asidofillerdendir. Ancak faaliyetleri ve gelişmeleri pH 5 altı ve 8'in üstünde tamamen durmaktadır.^{51,53}

2.3.7. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

A. Direkt Antagonistik Etki

a. Antibakteriyel etki: Laktik asit üreten bakterilerin değişik ve çok sayıda Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin üremesini engelleyen maddeler ürettiği bu bakterilerin iyi bilinen bir özelliğidir. Bu maddeler laktik asit, asetik asit, hidrojen peroksit, bakteriosinler, bakteriosin benzeri maddeler ve birçok patolojik bakteriye karşı etkili olan biosümfaktanlardır. ^{53,54} Oral probiyotik alımı sonrası fekal pH'ın düşmesi probiyotiklerin organik asit ürettiklerinin bir kanıtıdır. ⁵⁴ Probiyotikler, patojen bakterilerin metabolizma veya toksin üretimini değiştirir ya da canlı hücrelerin sayısını azaltırlar. ⁴⁷

İn vitro olarak yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; laktobasillerin birçoğu asetik asit ve laktik asit gibi metabolitlerinden ve pH'i düşürmelerinden dolayı bakteriyal patojenlerin çoğalmasın engellerler. Aynı zamanda laktobasiller, hücre dışı ve difüz edilebilir çoğalmayı engelleyici bileşikler sentezler. *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei* Shirota ya da *Lactobacillus acidophilus* YIT 0070 suşları hidrojen peroksit üreterek, *E. coli* 0157:H7 çoğalmasını sınırlandırmışlardır. İnsan sindirim sisteminden izole edilen lactobasillus suşlarının gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduğu bilinen dört izolatın (*Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* ve *Clostridium difficile*) üremesini sınırlandırmaktadır. ⁵³

Bifidobakterler şekerlerin fermentasyonu ile asetik asit, formik asit ve laktik asit üretmektedir. Bu asitlerin üretimi bağırsak pH'sını düşürmekte, bazı patojen bakterilerin gelişmesini engellemektedir. pH kontrolü aynı zamanda bakteri toksinlerinin, fenol ve aminlerin üretimini de kısıtlamaktadır. Bunun yanında asetik asitin Gram negatif bakterilere karşı laktik asitten daha inhibe edici olduğu belirlenmiştir. ⁵⁵ Laktik asit bakterilerinin bağırsakta ürettikleri yağ asitleri, bağırsağın *Shigella sonnei* ve *Enteropatojenik E.coli* ile kolonizasyonunu engellemektedir. ⁵³

Bakteriyosin, protein yapısında maddeler olup, duyarlı bakterilerin yüzeyindeki reseptöre bağlanarak ölümüne yol açtığı ve üreyen mikroorganizmaya yakın suşlara ve yakın türlere karşı, bakterisit etkisi olduğu bilinmektedir. Bakteriyosinler, molekül ağırlığı, biyokimyasal özelliği, aktivite spektrumu ile etki mekanizmasında değişiklikler olabilen heterojen bileşiklerdir. ⁵³ *Lactobacillus casei* GG, in vitro olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin çoğuna karşı 'mikrosin' adı verilen hücre dışı inhibitör bir madde üretir. ⁵⁶

b. Besin maddeleri için yarışma: Gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı en temel savunma mekanizmalardan biri, patojenlerin canlılığını sürdürebilmesi için gerekli temel besin maddelerinden mahrum

bırakmak olacaktır. ^{16,57} Normal barsak mikroflorasının da benzer bir işlevi olsa da bazı durumlarda yetersiz kalabilmekte ve desteklenmesi için probiyotiklere gerek olabilmektedir. ⁴⁸

İn vitro çalışmalar, bağırsak bakterilerinin monomerik glikoz, N-asetil glukozamin ve sialik asit gibi bağırsakta bulunan besin maddeleri için *Clostridium difficile* ile, karbon kaynakları için ise *Shigella flexneri* ile yarıştığını göstermiştir. ⁴⁷ *Saccharomyces boulardii* (*S.boulardii*), *Clostridium difficile*'nin gereksinim duyduğu monosakkaridleri tüketerek üremesini önlemektedir. ⁵⁷

c. Adezyon reseptörleri için yarışma: Probiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı intestinal sistemde bir bariyer oluşturarak, epitel hücrelerinin bu mikroorganizmalarla bağlanma derecesini azalttığı düşünülmektedir. ⁵⁶ Epitelin oluşturduğu bariyeri güçlendirerek, patojenlerin translokasyonunu önlerler.

S.boulardii, eritrositlerdeki *Entamoeba histolytica* reseptörleri için yarışır ve trofozoit sayısında azalma sağlar. ⁵⁷

Laktik asit bakterilerinin intestinal epitel hücrelerle adezyonu sağlayan çeşitli yüzey determinantları vardır. Laktik asit bakterilerinin mikrobiyal adezyonu, pasif kuvvetler, elektrostatik ilişkiler, hidrofobik, sterik kuvvetlerle ve lipoteikoik asit, lektinlerle kaplı özgün yapılarla ilişkilidir. *Lactobacillus acidophilus* LB ve BG2FO4 suşlarının adezyonunda işlev gören bakteriyal bileşik proteaza dirençlidir ve bakteri yüzeyi ile bağlantılıdır. *Lactobacillus fermentum* 104R suşunun hücre yüzeyinde yer alan 29 kDa moleküler ağırlıklı adezyonu sağlayan protein domuz yavrularının barsağının mukusuna bağlanmasında rolü vardır. *Lactobacillus johnsonii* La1 suşunun adezyonundan sorumlu faktör lipoteikoik asit olarak tanımlanmıştır. *Lactobacillus animalis* ve *Lactobacillus fermentum* yüzeylerinde lektin benzeri proteinlere sahiptir ve *Lactobacillus animalis*'in hücre duvarlarında ribitol teikoik asitlere rastlanmıştır. ⁵⁶

B. Metabolik Etki

a. Enzimatik aktivite: Enzimatik etkilerin başında disakkaridaz aktivitesi (laktaz, sükröz, maltaz gibi) ile makromolekülleri parçalarlar. Bunun dışında putresin, spermidin ve spermin gibi poliaminleri içermeleri nedeniyle hücre matürasyonu, enzim ekspresyonu, membran transportu ve epitel yenilenmesine katkıda bulunurlar. ⁴⁹

b. Vitamin üretimi: Probiyotik bakteriler bağırsak florasında yeterli sayıda bulduklarında, vitamin ve aminoasit sentezledikleri belirtilmiştir. Bu bakterilerin

ürettiği vitaminlerin en önemlileri, tiamin, riboflavin, piridoksin ve naftokinindir. *Bifidobacterium bifidum* bağırsak florasında bulunduğu, bağırsaklarda B6 vitamininin %400 arttığı belirtilmiştir.⁴⁵

c. Safra tuzlarının dekonjugasyonu: Dekonjugasyon reaksiyonu, *Enterococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp. ve *Lactobacillus* spp. cinslerinin de dahil olduğu birtakım barsak bakterileri tarafından üretilen safra tuzu hidrolaz enziminin faaliyeti ile, glisin veya taurin ile konjuge olmuş safra asitlerinden oluşan safra tuzlarının, amino asit kalıntısı ve serbest safra asidine hidroliz olmasıdır. Serbest safra asitleri, konjuge safra tuzlarına kıyasla daha az çözünür özelliktedir ve barsak kanalından daha az emilirler. Safra asitlerinin dekonjugasyonu; kolesterolün barsak kanalından daha az emilmesine yol açarak, enterohepatik döngüyle karaciğere dönen safra asidi miktarını azaltarak, karaciğerdeki safra asidi üretimini artırmak, barsaklarda meydana gelen asidik ortamda kolesterolün serbest safra asitleriyle cökmesini sağlamak suretiyle serum kolesterol seviyelerinin azalmasını sağlamaktadır.⁴⁹

C. İmmün Yanıt Etkisi

a. IgA ve sekretuar komponent yapımında artma: Laktik asit bakterileri ile yapılan çalışmalar, peyer plaklarından anlamlı miktarda IgA üretiminde artış sağladıklarını göstermiştir. Bu etkinin de diğer moleküler mekanizmalarda olduğu gibi türe özgü olduğu belirtilmektedir.²⁰ *Bifidobacterium* spp. içeren formula ile beslenen bebeklerin gaita örneklerinde, total IgA ve antipolio virüs IgA düzeyleri kontrollere oranla anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. *Lactobacillus GG* kullanımı sırasında *Rotavirüs*'e karşı IgA salgılayan hücre sayısında ve serum IgA düzeylerinde artış tespit edilmiştir.⁵⁹ Nonpatojen bir maya olan *S. boulardii* 'nin sıçan incebarsağında IgA sekresyonunu uyardığı, *Lactobacillus GG*'nin intestinal mukozada IgA ve diğer immunoglobulinleri salgılayan hücrelerin sayısını artırdığı, lokal interferon salınımını stimüle ettiği, lenfoid hücrelere antijen transportunu ve peyer plaklarının antijenleri almasını kolaylaştırdığı saptanmıştır.⁶⁰

b. Sitokin salınımı ve makrofaj aktivasyonu: Probiyotiklerin çoğu Gram pozitif bakteriler olduğundan hücre duvarları esas olarak peptidoglikandan oluşmuştur. Peptidoglikanın yıkım ürünleri arasında yer alan muramil peptidler direkt olarak makrofaj aktivasyonunu sağlar.⁶¹

Probiyotikler dolaşımdaki lökositler ve peritoneal makrofajların fagositik aktivitelerini arttırarak dalaktaki T-mitojen ve B-mitojen hücrelerin proliferatif cevaplarını arttırdığı bilinmektedir. Bazı probiyotiklerde farklı hücreler üzerinde oluşturdukları etkiler ile sitokin salınımını düzenleyerek mukozal ve sistemik immunitiyi düzenleyebilirler. Probiyotikler epitel hücreleri ile etkileşerek hücre sinyal iletimi üzerinden sitokin salınımının düzenlenmektedirler. Bakterilerin immun sistem tarafından tanınması ve bunun sonucu ortaya çıkacak T-hücre cevabının şekillenmesinde dendritik hücreler anahtar rol oynamaktadırlar. Probiyotik grubundan bilinen bazı bakterilerin dendritik hücrelerin maturasyonu ve sitokin ekspresyonunu indükleyerek az miktarda Tümör nekrozis faktör- α ve Interleukin-12 salınımının yanı sıra büyük miktarda Interlökin-10 salınımına neden olup, proinflamatuvar T helper 1 hücrelerin oluşmasını inhibe ederek, T helper regülatuar hücrelerin oluşumunu indükledikleri gösterilmiştir. Bu da probiyotiklerin peyer plaklarından başlayarak tüm sisteme yayılan uzak immun modulator etkilerinin varlığını göstermektedir.⁴⁹

c. Mukozal bariyerin sağlamaştırılması: Probiyotikler ve diğer GİS kommensal bakteriler, koruyucu bir bariyer olan mukus üretiminin stimülasyonu için intestinal epitelde musin kodlayan genlerin upregülasyonunu sağlamaktadırlar. Buna ilaveten mukozal sıkı bileşke proteinlerinin hasarını inhibe edebildikleri gösterilmiştir.¹⁶

d. İnflamasyon ve alerjik yanıtın baskılanması: Probiyotikler, alerjik hastalıkların semptomlarını T hepler 2 aracılı immun yanıt ile baskılamaktadırlar. Atopik hastalıklarda T helper 2 yolu aktive olur; İnterlökin-4 salınır ve İmmunglobulin E artışı ile eozinofili meydana gelmektedir.¹⁶ *Lactobacillus GG*, sığır kazeini gibi gıdasal allerjenleri parçalayabilir ve İnterlökin-4 üretimini azaltarak inflamasyon ve alerjik yanıtı baskılamaktadır.⁴⁷

e. Antitümör etki:1962'de Bagdanov ve arkadaşları *Lactobacillus bulgaricus*'un tümör gelişimini önleyen maddeler oluşturduğunu bildirmişler ve üç mekanizma ile açıklamışlardır:

1. Çeşitli komplekslerden karsinojenlerin oluşumunu sağlayan beta-glukuronidaz, beta-glukozidaz, azoredüktaz ve üreaz gibi fekal mikrobiyal enzimlerin inhibisyonu,

2. Nitrözaminlerin yıkımı ve sentezlerinde görev alan nitroredüktazın baskılanması,

3. Tümör hücrelerinin inhibisyonu: *Lactobacillus casei Shirota* suşu, hayvanlarda kimyasal olarak indüklenen tümörlere inhibitör etki gösterir.

Probiyotikler, kolonda fermentasyonla bütirat ve bütirik asit oluşturmaktadır. Bütirat kültürü yapılan kolon kanser hücrelerinde in vitro olarak büyümeyi yavaşlatmaktadır.⁴⁷

D. Antitoksik Aktivite

a. 120 kDa protein (proteolitik değil): Hayvan modellerinde, 120 kDa proteinin etkisi ile cAMP, adenilat siklaz aktivitesi azalarak, su-sodyum hipersekresyonunun azaldığı gösterilmiştir.¹⁶

b. 54 kDa protein (proteolitik): Toksin ve toksin reseptörlerine etki ederler: *Saccharomyces boulardii* 54 kDa proteini proteaz aktivitesinde olup, *Clostridium difficile* toksin A üzerine direkt olarak ve toksinin reseptöre bağlanmasını önleyerek etki etmektedir.⁶²

2.3.8. Probiyotiklerin Bakteriyel Translokasyona Etkisi

Barsağın doğal florası ve mukoza bütünlüğünün korunmuş olması, barsak lümenindeki patojen bakterilere karşı organizmanın savunmasında en önemli parametrelerdir. Bu savunma mekanizmalarının bozulması, BT'a yol açar ve hastalık şiddetinin artmasına neden olur. Deneysel kolit modellerinde MLN'ları, karaciğer ve dalakta BT gösterilmiş, kolon inflamasyonu ve BT'unun yaygınlığı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Probiyotiklerin, BT'u azalttığı ya da engellediği gösterilmiştir.⁶⁰

2.3.9. Probiyotiklerin Tedavide Kullanım Alanları

Kanıtlanmış yararlar:

- Akut rotavirus diyaresi ve gastroenteritinin önlenmesi ve tedavisi
- Antibiyotikle ilişkili yan etkilerin ve diyarenin engellenmesi

Güçlü kanıt olmasına rağmen ek kanıtların gerekli olduğu yararlar:

- Yiyecek alerjisi ve atopik egzema,
- *C. difficile* infeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesi,
- Günlük bakım evlerindeki çocuklar arasında akut solunum sistemi infeksiyonlarının önlenmesi,
- Vajinitin tedavisi ve önlenmesi, (Candida türlerinin etken olduğu ve bakteriyel vajinozis)
- Turist diyaresinin önlenmesi. ¹⁶

2.3.10. Yan Etki ve Komplikasyon

a. Probiyotiklerin kullanımını sınırlandırabilecek en önemli yan etki, translokasyon riskidir. *S. boulardii*, 1962 yılından günümüze değin, yaklaşık 100 ülkede binlerce hastada kullanılmış, yedi hastada *S.boulardii* fungemisi geliştiği rapor edilmiştir. Özellikle santral kateteri olan, immun düşkün hastalarda ekzojen kontaminasyon riski en kesin tehlike olarak belirtilmiş ve bundan dolayı şaselerin hasta odası dışında hazırlanması önerilmiştir.

b. Teorik olarak düşünüldüğünde akla gelen olası bir risk de probiyotiklerden diğer mikroorganizmalara direnç geni aktarımıdır. Probiyotik bakteriler için bu risk göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak, *S. boulardii* bir maya mantarı olup, antibiyotik direnci doğal dirençtir ve diğer türlere nakledilemez. ⁵⁷

c. Duyarlı kişilerde bağışıklığın aşırı uyarılması

d. Zararlı metabolik aktiviteler ¹⁶

2.3.11. Probiyotik Etki için Tüketim Seviyesi

Bilindiği gibi probiyotikler belirli seviyelerde ve sürelerde sağlık etkilerini meydana getirebilmektedirler. Dolayısıyla probiyotiklerin etkili olabileceği tüketim

seviyelerinin tanımlanması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmaların çoğunda probiyotik ürünler içerdikleri canlı bakteri sayısı baz alınarak sınıflandırılmışlardır. Ancak hala fizyolojik bir etkinin oluşabilmesi için gerekli probiyotik tüketim seviyesi hakkında çok fazla bilgi mevcut değildir ve araştırmacılar arasında da tam bir görüş birliği bulunmamaktadır. ⁶³

Yapılan çeşitli klinik çalışmalarda, laktobasil içeren probiyotiklerin tüketiminin ardından dışkıının gramında 10^6 - 10^8 spesifik probiyotik laktobasil olduğunda iyileşmenin sağlandığı görülmüştür.

Bifidobakterilerin probiyotik etkilerini gösterebilmeleri için gerekli minimum tüketim dozları konusundaki öneriler oldukça değişkendir. Bu konuda çeşitli araştırmacılar tarafından 10^6 , 10^7 ve 10^8 cfu/g değerleri önerilmektedir. ⁶⁴ Genel olarak gıda endüstrisindeki *Lactobacillus acidophilus*, bifidobakteriler ve diğer probiyotik mikroorganizmaların uygulamaları için 10^6 cfu/g seviyesi önerilmektedir.

Bifidobakteriler için önerilen günlük minimum tüketim dozu 10^8 - 10^9 canlı hücre, ya da bir başka ifadeyle 10^6 - 10^7 canlı hücre/g bakteri içeren bir üründen en az 100 g tüketilmesidir. ⁶⁵ Yine probiyotiklerin etkili olabilmesi için ince bağırsakta günlük olarak en az 10^8 - 10^9 canlı bakteri bulunması gerektiği düşünülmektedir. Bu bilginin doğruluğu durumunda gerçek toplam günlük doz 10^9 - 10^{10} canlı probiyotik bakteri olmalıdır. ⁶³

Ancak yapılan bir model çalışmada, GİS'de toplam probiyotik bakteriden %10-40'nın canlılığını sürdürdüğü dikkate alınırsa toplam tüketim dozu, GİS'deki canlılık seviyesi, dışkıdaki canlı probiyotik sayısı gibi faktörlerin çok yönlü ve ayrıntılı bir şekilde çalışılması gerekliliği halen devam etmektedir. ⁶³

2.3.12. Probiyotik Ürünler

Probiyotikler, üç temel kaynaktan alınmaktadır. Fermente süt ürünleriyle, gıdalara ve içeceklere bu bakterilerin canlı hücrelerinin eklenmesiyle, probiyotik bakterilerin canlı hücrelerinden hazırlanan farmakolojik ürünler olarak tablet veya kapsüllerin hazırlanmasıyla. ⁶⁶

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi DETAM (Deneysel Tıp Araştırma Merkezi) laboratuvarında, aynı fakültenin Genel Cerrahi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dallarından öğretim üyelerinin katkıları ile gerçekleştirildi. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu bu deneysel çalışmayı No:100/39 sayı ve 28.12.2007 tarih ile onayladı.

3.1. Deneklerin sınıflandırılması

Çalışma; ağırlıkları 250–280 gram arasında değişen 60 adet erişkin Wistar rat üzerinde yürütülmüştür. Kullanılan deneklerin tamamı özel metal kafeslerde, oda ısısında ve sabit çevre koşullarında ($21 \pm 2^\circ \text{C}$ ve 12 saatlik karanlık ve aydınlık sikluslar) takip edilerek normal su ve standart besin ile beslenmişlerdir. Ratlara yiyecek ve içecek kısıtlaması yapılmamıştır. Çalışma süresince ölen rat olmamıştır. Hayvanlar 6 eşit gruba ayrılmıştır. Gruplar şu şekilde sınıflandırılmıştır:

Grup 1 (n=10) Probiyotik verilmeyen, laparoskopi uygulaması sırasında CO_2 basıncı verilmeyen

Grup 2 (n=10) Probiyotik verilen, laparoskopi uygulaması sırasında CO_2 basıncı verilmeyen

Grup 3 (n=10) Probiyotik verilmeyen, laparoskopi uygulaması sırasında 14 mmHg CO_2 basıncı verilen

Grup 4 (n=10) Probiyotik verilen, Laparoskopi uygulaması sırasında 14 mmHg CO_2 basıncı verilen

Grup 5 (n=10) Probiyotik verilmeyen, Laparoskopi uygulaması sırasında 20 mmHg CO_2 basıncı verilen

Grup 6 (n=10) Probiyotik verilen, Laparoskopi uygulaması sırasında 20 mmHg CO_2 basıncı verilen

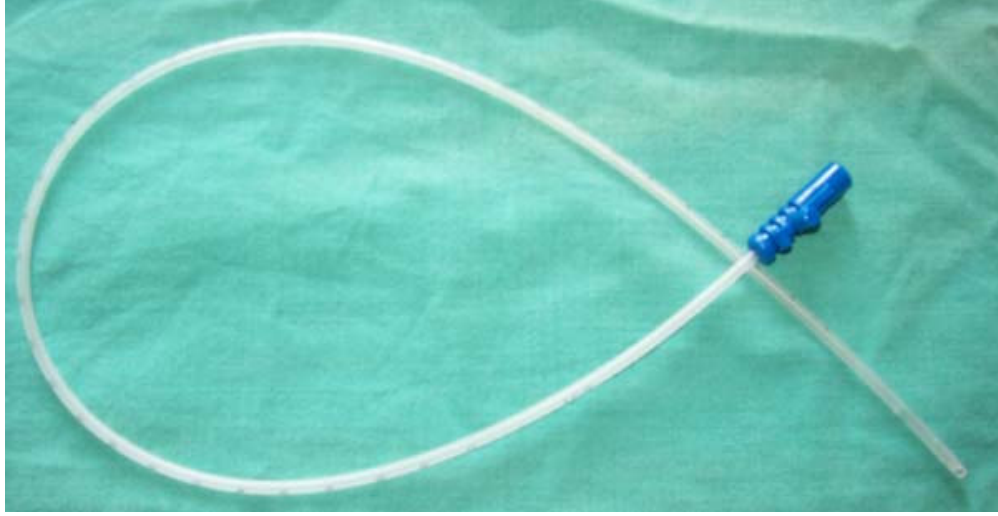
Grup 2, 4 ve 6'daki ratlara; canlı probiyotik bakteri olarak *Bifidobacterium (animalis) lactis DN 173-010*, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren Activia (Danone, Tikveşli Gıda ve İçecek San. Ve Tic. A.Ş. Lüleburgaz) ^{67,68} 15 gün boyunca 5×10^8 colony forming unit/gün (cfu/gün) olarak hayvanların sularına karıştırılarak verildi. ^{69,70}

3.2. Peritonit oluşturmak amacıyla *E.coli* preparasyonu

Standart *E.coli* (ATCC 25922) suşu, %5 koyun kanlı agarda (GBL, İstanbul, Türkiye) 37°C 'de 24 saat aerop koşullarda inkübe edildi. Üremiş olan *E.coli* kolonilerinden birkaç adet alınarak 1 ml serum fizyolojik içinde emülsifiye edildi. Bu süspansiyon 0,5 Mac Farland ile karşılaştırılarak 1.10^7 cfu/ml konsantrasyona ulaşması sağlandı. ⁷¹

3.3. Cerrahi yöntem (Laparoskopi uygulanması)

15 gün boyunca probiyotik bakteri verilen gruplara ve probiyotik bakteri verilmeyen diğer gruplardaki ratlara, 50 mg/kg ketamin hidrokloridin (Ketalar® EIP, İstanbul, Türkiye) intramüsküler injeksiyonunu takiben eter inhalasyonu ile anestezi sağlandı. Bu gruplardaki ratların karın bölgesi traşlandıktan sonra %10 povidone-iodine ile cilt temizliği yapıldı ve yalnızca insizyon bölgesi açık kalacak şekilde steril bir örtü ile örtüldü. Xyphoid ile üretral meatus arasında orta hattan steriliteye dikkat edilerek abdominal kaviteye girildi. Laparoskopi uygulaması amacıyla steril yenidoğan beslenme katateri (CH/FR:6, Jiangsu Kaishou Medical Apparatus Co. Ltd. China) kullanıldı ⁷¹ (Resim-1).



Resim-1. Laparoskopji uygulamasında kullanılan yenidoğan beslenme katateri

E.coli süspansiyonundan 2 ml (2×10^7 cfu) kullanılarak yenidoğan beslenme katateri aracılığı ile intraperitoneal yoldan bütün gruplardaki ratlara inoküle edildi. Bakterilerin peritona eşit bir şekilde dağılımına yardımcı olmak amacıyla nazik bir şekilde abdominal masaj uygulandı.⁷¹

Hemen sonrasında Grup 1 ve 2'nin yenidoğan beslenme katateri kapatılarak CO₂ gazı verilmedi ve karın içi basınç oluşturulmadı. 60 dakika süreyle intraperitoneal yoldan yenidoğan beslenme katateri ile Grup 3 ve 4'e 14 mmHg, Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg CO₂ verildi. CO₂ insüflatörü (Karl Storz, Germany) yardımıyla kademeli artışlarla istenilen intraabdominal basınca ulaşıldı. Kullanılan monitörün aşırı basınç oluştuğunda durgunluk yapma ya da gaz kaçıışı olduğunda gaz akışını takviye etme özelliğinden yararlanılarak sabit intraabdominal basınç sağlandı^{71,72} (Resim-2).



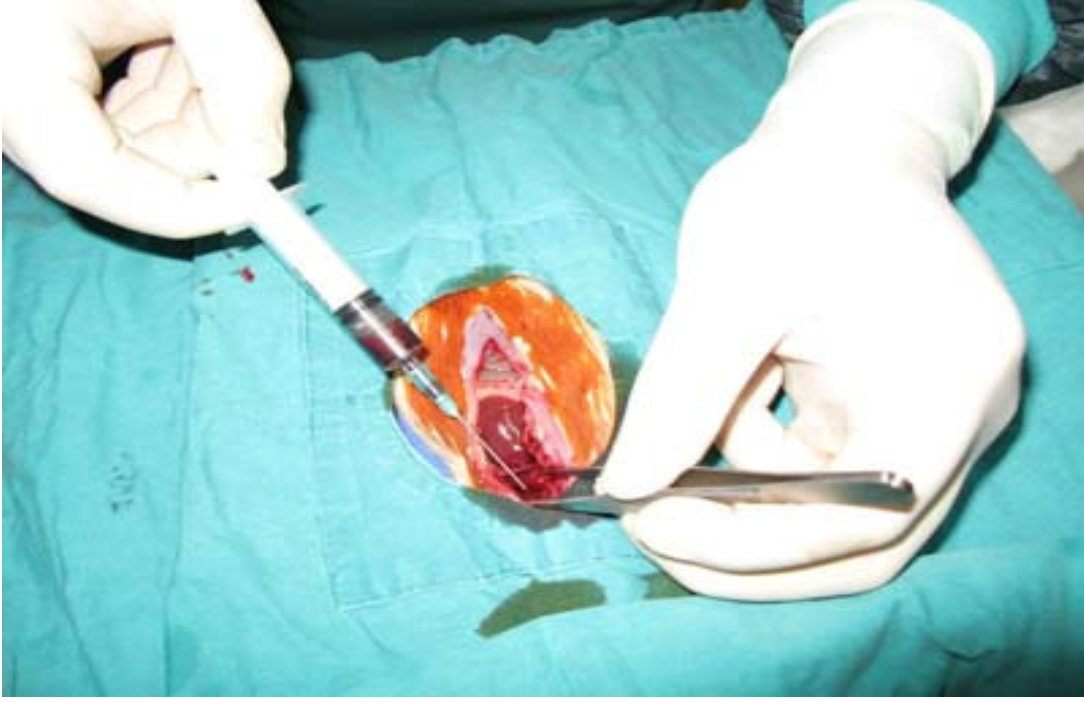
Resim -2. Karbondioksit insüflatörü

3.4. Örneklerin Elde Edilmesi

E.coli inokülasyonunu takiben Grup 3 ve 4'e 14 mmHg; Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg CO₂ basıncı verildikten sonra bütün gruplardan 0 ve 2. saatte ⁷³ steril bir şekilde kuyruk veninden 1 ml kan örneği alınarak, kan kültürü için otomatize kan kültür şişesine (BACTEC, Becton Dickinson, İrlanda) inoküle edildi. ⁷⁴

Doku örneklerinin toplanması amacıyla operasyon steril şartlarda 6.saatte spine pozisyonundaki ratlara orta hat kesisi ile batına girilerek yapıldı. Bütün gruplardan 6.saatte intrakardiyak kan ponksiyon ile alındıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (Resim-3). Alınan 1 ml'lik kan kültür örnekleri otomatize kan kültür şişelerine inoküle edildi. ⁷³

BT'ü değerlendirmek amacıyla MLN, karaciğer ve dalak doku örnekleri alınıp ağırlıkları tartılarak kaydedildi ^{72,75} (Resim 4 ve 5) .



Resim- 3. İntrakardiyak kan örneğinin alınması



Resim-4. Mikrobiyolojik analiz için alınan karaciğer doku örneği



Resim-5. Mikrobiyolojik analiz için alınan MLN doku örneği

3.5. Mikrobiyolojik Analiz

Doku Örnekleri:

Alınan doku örnekleri steril bir şekilde tartıldı ve önceden sterilize edilmiş ve ağırlıkları tartılmış tüplere konuldu. Örnekler, 1ml tiyoglikolatlı buyyon içinde laboratuvara ulaştırıldı.⁷⁵

Daha önceden steril edilmiş metal çubuklar ile ezildi ve vortekslenerek homojenize edildi.⁷⁴ Bu homojenattan 500 µl alınarak 4,5 ml %0,9 NaCl içeren bir tüpe transfer edildi. Bu dilüsyondan 100 µl alınarak aerop ve anaerop kültürler için ekimler yapıldı.⁷⁵

Aerop kültürler için örnekler %5 koyun kanlı agar, çukulatamsı agar (GBL, İstanbul, Türkiye) ve Eosin Methylen Blue (EMB) agara (GBL, İstanbul, Türkiye) ekilerek 37°C 'de 24–48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olup olmadığı kontrol edildi. Aerop kültürlerde üreme olan petriplerdeki koloniler Gram yöntemi ile boyandı. Besiyerlerinde üreyen bakteri koloni sayıları kaydedildi ve standart

mikrobiyolojik yöntemlerin yanısıra API 32 GN (API, BioMèrieux, Fransa) ile tanımlandı. ^{74,76}

Anaerop kültür amacı ile örnekler kanlı besiyerine, EMB besiyerine ve Schaedler besiyerine (Biolab, Macaristan) ekildi; kanlı agar, Schaedler besiyeri ve EMB besiyerleri anaerop kavanoz içinde 37°C de 72 saat inkübe edildi. Anaerop ortam gaz kitleri (Anaero-Gen, Oxoid, Birleşik Krallık) ile sağlandı. Anaerop inkübasyon sonrası üreme tespit edilen besiyerlerindeki koloniler aerop besiyerlerindeki ile kolonilerin morfolojisi karşılaştırıldı, Gram boyalı preparat hazırlanarak incelendi. Aerotolerans kontrolü için kanlı besiyerine pasaj yapılarak, aerop ortamda 24 saat 37⁰ C de inkübe edildi. Aerotolerans gösteren bakteriler aerop kabul edildi. ^{77,78}

Üreme saptanan dokularda bakteriyel translokasyon indexi olarak, doku gramı başına düşen mikroorganizma sayısını hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı. ⁷⁹

$$\text{Doku başına düşen koloni sayısı (cfu/gr)} = \frac{\text{Koloni sayısı(cfu)} \times \text{Sulandırım değeri} \times 10}{\text{Doku ağırlığı}}$$

Kan Örnekleri:

Kan örneklerinin inoküle edildiği otomatize kan kültür şişeleri 7 gün takip edildi. 7 gün içinde üreme sinyali vermeyen örnekler Gram boyalı preparatları yapıldıktan ve %5 koyun kanlı agar besiyerlerine pasajlanıp üreme olmadıkları doğrulandıktan sonra sonuç negatif olarak kabul edildi. Sinyal veren örnekler, %5 koyun kanlı agar ve EMB besiyerine pasajlar yapılarak 37 °C 'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olup olmadığı kontrol edildi. Aerop kültürlerde üreme olan besiyerindeki koloniler önce Gram yöntemi ile boyandı daha sonra standart mikrobiyolojik yöntemler ve API 32 GN (API, BioMèrieux, Fransa) ile tanımlandı. ⁷⁴

3.6. Çalışmada Kullanılan Bakteriolojik Besiyerleri ⁷⁴

Kanlı Agar:

Trypticase veya peptone	15 g
Soya enzimatik hidrolizatı	5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

Çukulatamsı Agar:

Proteose peptone	7.5 g
Polypeptone	7.5 g
Nişasta	1 g
NaCl	5 g
K ₂ HPO ₄	4 g
KH ₂ PO ₄	1 g
Agar	10 g
Saf su	1000 ml

Eosin Methylen Blue:

Pepton	10 g
Laktoz	5 g
Sükroz	5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Agar	13.5 g
Eozin Y	0.4 g
Metilen mavisi	0.065 g
Saf su	1000 ml

Schaedler Besiyeri:

Substrat (pepton, extract)	18 g
Glukoz	5.8 g
NaCl	1.7 g
L-Sistein HCl	0.4 g
Vitaminler	0.011 g
Buffers (TRIS ve fosfat)	3.1 g
Agar	14 g
Saf su	1000 ml

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel analiz SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 12,0) paket programı ile yapıldı. Tüm gruplara çalışılan parametrelerin ortalama \pm standart sapması hesaplandı. BT oranlarını değerlendirmek için Mann Whitney U testi, tek yönlü ANOVA testi, Kruskal Wallis testi kullanıldı. P değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 60 adet erişkin Wistar rat kullanıldı ve 6 eşit gruba ayrıldı. Deneysel peritonit oluşturulan bütün gruplara laparoskopi uygulandı. Laparoskopi sırasında CO₂ miktarlarına göre alınan doku kültürleri değerlendirilerek BT olup olmadığı ve 0, 2 ve 6. saatlerde alınan kan kültürleri değerlendirilerek zamana göre BT oranı araştırıldı. Aynı zamanda gram doku başına düşen ortalama bakteri sayısı (bakteriyel translokasyon indeksi) hesaplanarak gruplara göre dokulardaki BT değerlendirildi. Ayrıca dokulara ve kana oluşabilecek BT'a probiyotiklerin etkisi araştırıldı.

Bütün gruplardan alınan MLN, dalak, karaciğer doku örneklerinden yapılan aerop ekimlerde, üreme olan bütün örneklerden *E.coli* izole edilmiştir. Anaerop ekimlerde ise anaerop bakteri ürememiştir.

Probiyotik verilmeyen gruplarda CO₂ miktarına göre dokulardaki BT oranları değerlendirildiğinde;

MNL'da; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de ratların tamamında (%100) görülürken; en düşük BT, CO₂ verilmeden laparoskopi uygulanan grup 1'de (%30) görülmüştür.

Karaciğerde; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de (%80) görülürken; en düşük BT, CO₂ verilmeden laparoskopi uygulanan Grup 1'de (%10) görülmüştür.

Dalakta; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de (%80) görülürken; CO₂ verilmeyen grup 1 ve 14 mmHg CO₂ verilen grup 3'te eşit fakat daha az oranda (%20) BT görülmüştür.

20 mmHg CO₂ uygulanan Grup 5'te BT oranı; hiç basınç uygulanmayan grup 1'e göre MLN, karaciğer, dalakta ve 14 mmHg CO₂ basıncı verilen Grup 3'e göre karaciğer, dalakta (p<0.01) ve MLN'da (p=0,04; p<0.05) anlamlı şekilde artmış bulundu.

14 mmHg CO₂ basıncı verilerek laparoskopi uygulanan Grup 3 ile basınç uygulanmayan Grup 1 karşılaştırıldığında; MLN, karaciğer ve dalağa BT oranları açısından anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo-2).

Tablo-2. Probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre BT oranları

Gruplar	MLN		Karaciğer		Dalak	
	n	%	n	%	n	%
Grup 1 (0 mmHg)	3 /10	30	1 /10	10	2/10	20
Grup 3 (14 mmHg)	6 /10	60	2 /10	20	2/10	20
Grup 5 (20 mmHg)	10 /10	100	8/10	80	8 /10	80

Probiyotik verilen gruplarda CO₂ miktarına göre dokulardaki BT oranları değerlendirildiğinde;

MNL'de; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'de (%40) görülürken; en düşük BT oranı, CO₂ verilmeyen Grup 2'de (%20) görülmüştür.

Karaciğerde; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'da (%30) görülürken; CO₂ verilmeyen Grup 2'de BT saptanmamıştır.

Dalakta; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'da (%30); en düşük BT oranı, CO₂ verilmeyen Grup 2'de (%10) görülmüştür.

CO₂ miktarlarına göre BT oranı, gruplar arası karşılaştırıldığında basınca bağlı olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo-3).

Tablo-3. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre BT oranları

	MLN		Karaciğer		Dalak	
	n	%	n	%	n	%
Grup 2 (0 mmHg)	2 /10	20	-	-	1/10	10
Grup 4 (14 mmHg)	3/10	30	1/10	10	2/10	20
Grup 6 (20 mmHg)	4/10	40	3 /10	30	3/10	30

Probiyotik verilmeyen gruplarda CO₂ miktarına göre kan kültür sonuçları değerlendirildiğinde;

Bütün gruplardan 0. saatte alınan kan örneklerinden yapılan kültürlerde bakteri ürememiştir.

İkinci saatte; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de (%80) görülürken; en düşük BT oranı CO₂ verilmeyen Grup 1'de (%30) saptanmıştır.

Altıncı saatte; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de olup ratların tamamında (%100) BT görülmüştür. En düşük BT oranı, CO₂ verilmeyen Grup 1'de (%40) saptanmıştır.

2. saatte 20mm Hg CO₂ uygulanan Grup 5'te Grup 1'e (p=0.02, p<0.05) ve Grup 3'e (p=0.04, p<0.05) göre BT oranında anlamlı bir artış saptanmıştır. 6. saatte ise yine Grup 5'te Grup 1'e göre BT oranında anlamlı bir artış saptanırken (p<0.01), Grup 3'e göre BT oranında anlamlı bir artış saptanmamıştır (p>0.05).

14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan Grup 3'te Grup 1'e göre 2. saatte BT oranında göreceli olarak bir artış saptanırken, anlamlı bir artış saptanmamıştır (p>0.05). 6. saatte BT oranında ise Grup 3'te Grup 1'e göre anlamlı bir artış saptanmıştır (p=0.04, p<0.05).

Zamana göre BT oranlarını değerlendirdiğimizde; Grup 1 ve 5'te 6. saatte 2. saate göre göreceli bir artış tespit edilip, anlamlı bir artış gözlenmezken (p>0.05); grup 3 te ise 6. saatte 2. saatte göre BT oranında anlamlı bir artış gözlenmiştir (p=0.04, p<0.05) (Tablo-4).

Tablo-4. Probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre kan kültürlerinde üreme oranları

	0.s		2.s		6.s	
	n	%	n	%	n	%
Grup 1 (0 mmHg)	-	-	3/10	30	4/10	40
Grup 3 (14 mmHg)	-	-	4/10	40	8/10	80
Grup 5 (20 mmHg)	-	-	8/10	80	10/10	100

Probiyotik verilen gruplarda CO₂ miktarına göre kan kültür sonuçları değerlendirildiğinde;

İkinci saatte; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'da (%30) görülürken, CO₂ verilmeyen Grup 2 ve 14 mmHg CO₂ verilen Grup 4'te daha az ve eşit oranda BT (%20) saptanmıştır.

Altıncı saatte; en yüksek BT oranı, 20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'de (%60) görülürken, en az BT 14 mmHg CO₂ verilen Grup 4'te (%20) saptanmıştır.

20 mmHg CO₂ verilen Grup 6'da 14mmHg CO₂ verilen Grup 4'e göre 6. saatteki kan kültürlerinde BT oranında anlamlı bir şekilde artış gözlenmekte olup (p=0.04, p<0.05.); basınç uygulanmayan Grup 2'ye göre 6. saatteki BT oranı göreceli olarak artarken anlamlı bir artış görülmemiştir (p>0.05). İkinci saatte ise Grup 6'da, Grup 4 ve Grup 2 'ye BT oranında da göreceli bir artış gözlenirken anlamlı bir artış gözlenmemiştir (p>0.05).

14 mmHg CO₂ verilen Grup 4'de hiç basınç uygulanmayan Grup 2'ye göre 2. ve 6. saatlerde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (p>0.05).

Zamana göre BT oranlarını değerlendirdiğimizde; Grup 2 ve Grup 6'da 6. saatte 2. saate göre göreceli bir artış tespit edilirken, anlamlı bir artış gözlenmemiştir (p>0.05). Grup 4'te ise 2 ve 6.saatler arasında BT oranlarında bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo-5).

Tablo-5. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre kan kültürlerinde üreme oranları

	0.s		2.s		6.s	
	n	%	n	%	n	%
Grup 2 (0 mmHg)	-	-	2/10	20	3/10	30
Grup 4 (14 mmHg)	-	-	2/10	20	2/10	20
Grup 6 (20 mmHg)	-	-	3/10	30	6/10	60

Tüm gruplardaki ratlardan alınan MLN, karaciğer ve dalak doku örneklerinde doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre BT araştırıldığına;

MLN'da; $21.5 \pm 12.4 \times 10^3$ cfu/g olarak en yüksek BT, probiyotik verilmeyen ve 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de izlenirken; en düşük BT $2.0 \pm 1.3 \times 10^3$ cfu/g olarak probiyotik verilen ve CO₂ verilmeyen Grup 2'de izlenmiştir.

Karaciğerde; $9.0 \pm 5.6 \times 10^3$ cfu/g olarak en yüksek BT, probiyotik verilmeyen ve 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de izlenirken; probiyotik verilen ve CO₂ verilmeyen Grup 2'te BT izlenmemiştir.

Dalakta; $10.2 \pm 5.5 \times 10^3$ cfu/g olarak en yüksek BT, probiyotik verilmeyen ve 20 mmHg CO₂ verilen Grup 5'de izlenmiştir. En düşük BT 0.3×10^3 cfu/g olarak probiyotik verilen ve CO₂ verilmeyen Grup 2'de izlenmiştir.

Tüm gruplardaki ratlarda doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre; BT en yüksek oranda MLN 'a ($p < 0.01$) olurken, karaciğer ve dalak arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Probiyotik alan Grup 2,4,6'da doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre BT, probiyotik almayan Grup 1, 3, 5'e oranla anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p = 0.03$, $p < 0.05$).

CO₂ basıncı arttıkça dokulardaki doku gramı başına düşen bakteri sayılarında anlamlı bir artış göstermektedir ($p < 0.01$) (Tablo 6).

Tablo-6. Doku örneklerindeki doku gramı başına düşen ortalama bakteri sayısı (bakteriyel translokasyon indeksi)

Gruplar	MLN	Karaciğer	Dalak
Grup 1 (0 mmHg) (probiyotiksiz)	$5.4 \pm 2.9 \times 10^3$	0.2×10^3	$0.6 \pm 0.4 \times 10^3$
Grup 2 (0 mmHg) (probiyotikli)	$2.0 \pm 1.3 \times 10^3$	-	0.3×10^3
Grup 3 (14 mmHg) (probiyotiksiz)	$10.6 \pm 3.3 \times 10^3$	$1.8 \pm 1.1 \times 10^3$	$2.0 \pm 1.3 \times 10^3$
Grup 4 (14 mmHg) (probiyotikli)	$3.8 \pm 1.9 \times 10^3$	1.0×10^3	$1.2 \pm 0.8 \times 10^3$
Grup 5 (20 mmHg) (probiyotiksiz)	$21.5 \pm 12.4 \times 10^3$	$9.0 \pm 5.6 \times 10^3$	$10.2 \pm 5.5 \times 10^3$
Grup 6 (20 mmHg) (probiyotikli)	$9.0 \pm 3.1 \times 10^3$	$1.3 \pm 0.7 \times 10^3$	$1.9 \pm 1.1 \times 10^3$

Probiyotiğin BT'a olan etkisine, uygulanan basınç durumuna göre baktığımızda;

CO₂ verilmeden laparoskopi uygulanan ve probiyotik verilmeyen Grup 1' de en yüksek BT oranı MNL (%30)'a, en az BT oranı ise karaciğer (%10)'e görülmüştür. Probiyotik verilen Grup 2'de en yüksek BT oranı MNL (%20)'a görülürken; karaciğere BT izlenmemiştir.

Basınç uygulanmayan gruplarda; probiyotik verilen Grup 2'de MNL, karaciğer ve dalakta BT oranında probiyotik verilmeyen Grup 1'e göre göreceli olarak azalma saptanmış, ancak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo-7).

Tablo-7. CO₂ uygulanmayan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Grup	MLN		Karaciğer		Dalak	
	n	%	n	%	n	%
Grup 1 (probiyotiksiz)	3 /10	30	1 /10	10	2/10	20
Grup 2 (probiyotikli)	2/10	20	-	-	1 /10	10

14 mmHg CO₂ basıncı kullanarak laparoskopi uygulanan ve probiyotik verilmeyen Grup 3'te en yüksek BT, MNL (%60)'a, daha az ve eşit olarak dalak ve karaciğer (%20)'e görülmüştür. Probiyotik verilen Grup 4'te en yüksek BT oranı, MNL (%30)' a görülürken, en az karaciğer (%10)'e görülmüştür.

14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda; probiyotik verilen Grup 4'te MNL, karaciğer ve dalakta BT oranı probiyotik verilmeyen Grup 3'e göre göreceli olarak azalırken, anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05) (Tablo-8).

Tablo-8. 14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Grup	MLN		Karaciğer		Dalak	
	n	%	n	%	n	%
Grup 3 (probiyotiksiz)	6/10	60	2/10	20	2/10	20
Grup 4 (probiyotikli)	3 /10	30	1/10	10	2/10	20

20 mm Hg CO₂ basıncı uygulanan ve probiyotik verilmeyen Grup 5'te en yüksek BT oranı, MNL (%100)'a görülürken, daha az ve eşit olarak dalakta ve karaciğer (%80)'e görülmüştür. Probiyotik verilen Grup 6'da en yüksek BT oranı; MNL (%40)'a olduğu, karaciğer ve dalakta ise (%30) daha az ve eşit olduğu bulunmuştur.

20 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda; probiyotik verilen Grup 6'da BT, MNL (p<0.01), karaciğer (p=0.02; p<0.05) ve dalakta (p=0.02; p<0.05) probiyotik verilmeyen Grup 5'e göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Tablo-9).

Tablo–9. 20 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Grup	MLN		Karaciğer		Dalak	
	n	%	n	%	n	%
Grup 5 (probiyotiksiz)	10/10	100	8/10	80	8 /10	80
Grup 6 (probiyotikli)	4/10	40	3 /10	30	3/10	30

CO₂ verilmeyen gruplarda zamana göre probiyotiklerin BT oranına etkisi araştırıldığında; Grup 1’de BT oranı 2.saatte alınan kanda %30 iken bu oran 6.saatte %40’a çıkmıştır. Probiyotik verilen Grup 2’de ise 2.saatteki kan kültürlerindeki BT oranı % 20 olarak görülürken bu oran 6.saatte % 30 olarak tespit edilmiştir. 2.saatte grup 1’de %30 olan BT oranı; Grup 2’de %20’e düşerken; 6. saatte ise bu oran %40’ den %30’a düşmüştür.

CO₂ basıncı uygulanmayan gruplarda zamana göre BT oranı; 2 ve 6. saatlerde probiyotik alan Grup 2’de, probiyotik almayan Grup 1’e göre göreceli olarak azalırken anlamlı bir azalma görülmemiştir (p>0.05).

Zamana göre BT oranlarını değerlendirdiğimizde; Grup 1 ve 2’de 6. saatte 2. saate göre göreceli bir artış tespit edilirken anlamlı bir artış gözlenmemiştir (p>0.05) (Tablo–10).

Tablo-10. CO₂ uygulanmayan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerinde üreme oranları

Grup	0.saat		2.saat		6.saat	
	n	%	n	%	n	%
Grup 1 (probiyotiksiz)	-	-	3/10	30	4 /10	40
Grup 2 (probiyotikli)	-	-	2/10	20	3/10	30

14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda zamana göre probiyotiklerin BT oranına etkisi araştırıldığında; Grup 3'de BT oranı 2.saatte %40 iken bu oran 6.saatte %80'e çıkmıştır. Probiyotik verilen grup olan Grup 4'te ise 2.saatteki kan kültürlerinde tespit edilen BT oranı %20 iken bu oran 6.saatte yine %20 olarak bulunmuştur. Grup 3'te 2.saatte %40 olan BT oranı; Grup 4'te %20'e düşerken 6. saatte ise %80 den %20'a düşmüştür.

2. saatte BT oranı probiyotik alan Grup 4'te, probiyotik almayan Grup 3'e göre göreceli olarak azalırken anlamlı bir azalma görülmemiştir ($p>0.05$). Altıncı saatte ise probiyotikli Grup 4'te probiyotiksiz Grup 3'e göre BT oranı anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.01$).

Zamana göre BT oranlarını değerlendirdiğimizde; Grup 3'te 6. saatte 2. saatte göre BT oranında anlamlı bir artış gözlenirken ($p=0.04$, $p<0.05$), Grup 4'te ise 2 ve 6.saatler arasında BT oranlarında bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo-11).

Tablo-11. 14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerinde üreme oranları

Grup	0.saat		2.saat		6.saat	
	n	%	n	%	n	%
Grup3 (probiyotiksiz)	-	-	4/10	40	8/10	80
Grup 4 (probiyotikli)	-	-	2/10	20	2/10	20

20 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda zamana göre probiyotiklerin BT oranına etkisi araştırıldığında; Grup 5'te BT oranı 2.saatte alınan kanda %80 iken bu oran 6.saatte %100'e çıkmıştır. Probiyotik verilen grup olan Grup 6'da ise 2.saatteki kan kültürlerinde BT oranı %30 iken bu oran 6. saatte %60 olarak bulunmuştur. 2.saatte Grup 5'de %80 olan BT oranı; Grup 6'da %30'e düşerken 6. saatte ise %100 den %60 inmiştir.

20 mmHg CO₂ uygulanan gruplardan alınan kan kültürlerinde; probiyotik alan Grup 6'da almayan Grup 5'e göre BT oranında 2. (p=0.02, p<0.05) ve 6. saatlerde (p=0.04, p<0.05) anlamlı bir azalma görülmüştür.

Zamana göre BT oranlarını değerlendirdiğimizde; Grup 5 ve 6'da 6. saatte 2. saate göre göreceli bir artış tespit edilirken anlamlı bir artış gözlenmemiştir (p>0.05)(Tablo12).

Tablo -12. 20 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerinde üreme oranları

Grup	0. saat		2.saat		6.saat	
	n	%	n	%	n	%
Grup 5 (probiyotiksiz)	-	-	8/10	80	10/10	100
Grup 6 (probiyotikli)	-	-	3/10	30	6/10	60

5. TARTIŞMA

Bakteriyel translokasyon, bağırsak florasında bulunan bazı bakterilerin ve bakteri ürünlerinin bağırsak mukozasından MLN'larına, karaciğer, dalak, böbrek gibi GiS dışındaki organlara ve sistemik dolaşıma yayılması olarak tanımlanmaktadır.^{54,80} Bağırsakların lümen içi patojenlere karşı bariyer fonksiyonu ve BT ile ilgili çalışmalarda; bağırsak fonksiyon bozukluğu ile infeksiyon, ARDS ve multiorgan yetmezliği sendromunun gelişmesi arasında korelasyon olması, klinik çalışmalarda bağırsakta kolonize olan bakterilerin infeksiyona yol açtığına gösterilmesi ve enteral beslenme ile infeksiyöz komplikasyonlar açısından daha iyi klinik sonuçların elde edilmesi bu düşünceyi desteklemektedir. BT, sağlıklı bireylerde de meydana gelen bir olaydır. Ancak sağlıklı bireylerde az sayıda bakteri translokasyonu meydana gelmektedir ve bakteriler lenf düğümlerinde etkisiz hale getirilirler.⁵⁴ Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan peritonitte, laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ miktarına bağlı olarak oluşabilecek BT ve probiyotik bakterilerin bu olayı önlemede etkisinin olup olmadığını araştırmak amaçlandı.

Flora bakterileri mukoza hasarı olduğunda, hasar bölgelerinden geçerek MLN'larına, karaciğere ve kana ulaşarak sistemik olarak yayılabilirler.⁵⁴ Son yıllarda intraabdominal hipertansiyonunda bağırsak perfüzyonunun azalması nedeniyle MLN'lere yüksek oranda BT'a neden olduğu, bunun da intraabdominal hipertansiyonu olan hastalarda infeksiyon ve sepsis gelişiminde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir.⁸¹

Eizaguirre ve ark.⁸² ile Schimpl ve ark.⁸³ hayvan modellerinde intestinal rezeksiyondan sonra en yüksek BT oranının MLN'a ve dalağa olduğunu bildirmiştir. O'Brien ve ark.⁸⁴ ince bağırsak rezeksiyonu yapılan hayvanlarda en sık MNL ve karaciğere BT olduğunu saptamışlardır. İnce bağırsak rezeksiyonundan sonraki BT mekanizmasının, barsak permeabilitesindeki değişimleri kapsamadığını ileri sürmüşlerdir.

Nayci ve ark.⁸⁵ bağırsak dekontaminasyonunun bronkoskopiye bağlı BT etkisini araştırdıkları deneysel çalışmada; kontrol grubu ile bronkoskopi ve dekontaminasyon

yapılan grupta BT saptamamış, sadece bronkoskopi yapılan grupta MLN'a %46,7 ile en yüksek BT olduğunu belirlemiş, karaciğer ve dalağa ise %13,3 oranında BT tespit etmişlerdir. Bu bulgulara dayanarak iyi bir barsak dekontaminasyonunun bronkoskopiye bağlı BT'a karşı koruyucu rol oynayacağı sonucuna varmışlardır.

Demirkan ve ark.⁸⁶ mekanik intestinal obstrüksiyonda antienflamatuar bir ajan olarak indometasinin intestinal permeabilite, BT ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerinin ortaya konulması için yaptıkları deneysel çalışmada; ileus oluşturulan grupta MLN'a %43,3 oranında BT ve kan kültürlerinde %70 oranında üreme saptamışlardır.

Çalışmamızda probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO₂ oranlarına göre; Grup 1,3 ve 5'te MLN, karaciğer ve dalağa BT olduğu saptandı. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO₂ oranlarına göre; Grup 2'de karaciğere BT olmadığı, diğer bütün gruplarda MLN, karaciğer ve dalağa BT olduğu saptandı. Çalışmamızda literatüre uygun şekilde probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda; en fazla bakteriyel translokasyon MLN'a olup, bunu da dalak ve karaciğer dokularına BT takip etmiştir (Tablo 2 ve 3). Bu sonuçlara bağlı olarak laparoskopi sırasında oluşan hasarın, intestinal mukoza bütünlüğünü bozarak mukozal bariyerin kırılmasına ve artan intrabdominal basıncın bağırsak perfüzyonunu azaltarak MLN'a yüksek oranda BT'a neden olabileceği düşünülmektedir.

Gaz insüflasyonu ile intraabdominal basıncı artırarak oluşturulan pnömoperiton, periton içindeki mezotelial hücre plaklarındaki inflammatuar süreçleri aktive ederek pozitif kültür oranını artırmaktadır. İntraabdominal basıncın yüksekliği ile hızlı türbülansa neden olan gaz insüflasyonunun, kandaki bakteri sayısını artırması ile kısmen açıklanabilir. Laparoskopik cerrahinin başarı ile uygulanabilmesi için normalde karın içi basıncının 14–15 mmHg'ya kadar yükseltilerek karın içinin görünür şekilde getirilmesi gerekmektedir. Ucuz, kolay elde edilebilir olması ve kolay absorbe edilmesi nedeniyle pnömoperiton oluşturmak amacıyla rutin olarak karbondioksit kullanılmaktadır.⁸⁷

İntraabdominal basıncın artmasıyla postoperatif septik komplikasyonların arttığı teorisi, birçok deneysel çalışma ile desteklenmiş olsa da, peritonit için yapılmış deneysel laparoskopik cerrahi çalışmalarının sonuçları farklılık göstermektedir. Peritonit modeli oluşturulmuş deneysel çalışmalar; CO₂ gazı insüflasyonu ile oluşturulan pnömoperitonun, bakteriyemiye arttırdığı fakat endotoksemi ve intraabdominal absese dönüşümü etkilemediğini göstermiştir.^{73,88-90}

Eleftheriadis ve ark. ⁹⁰ intestinal iskemi oluşturulmuş ratların batınına laparoskopi sırasında 15mmHg CO₂ gazı verilerek oluşturdukları pnömoperiton grubu deneklerden alınan karaciğer, dalak ve MLN kültürlerinde, kontrol ve laparotomi grubuna göre BT'un arttırdığını bildirmişlerdir.

Kayaoğlu ⁸⁷ 10⁹ cfu/ml *E.coli* ile peritonit oluşturduğu, helyum ve CO₂ gazı kullanarak yaptığı laparoskopik cerrahi deneysel tez çalışmasında; bu gazların bakteriyemi ve BT'a etkilerini araştırmıştır. Doku kültürlerinde sadece kontrol ve 14 mmHg CO₂ verilen grupta %100, laparotomi uygulanan grupta %60, helyum verilen grupta %77,5 oranında üreme tespit etmişlerdir.

Horattas ve ark. ⁷¹ *E.coli* ile peritonit oluşturulan hayvan modellerinde değişik gaz ve basınçların BT üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; diğer çalışmalardan farklı olarak laparoskopi sırasında düşük basınçta (3 mmHg) uygulanan helyum ve CO₂'in, yüksek basınca (14 mmHg) göre BT oranını daha fazla arttırdığını saptamışlardır. Düşük basınçlı grupta BT en fazla 165.dakikada olurken, 15 ve 30. dakikalarda yüksek ve düşük basınçlı grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bunun nedeni olarak stomataların açılmasının 3 mmHg basıncın yeterli olduğunu ve insanlarda cerrahi sırasında pozitif basınçlı ventilasyon uygulanırken hayvan modellerinde entübasyon kullanılmadığı için spontan solunuma bağlı abdominal basınçta farklılıklar oluştuğunu savunmuşlardır.

Çalışmamızda; probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda CO₂ miktarının artırılması ile ilişkili olarak BT oranları da artış göstermektedir. En yüksek BT oranları yüksek CO₂ basıncı (20 mmHg) uygulanan gruplarda saptanmıştır. Özellikle probiyotik verilmeyen gruplarda laparaskopi sırasında 20 mmHg CO₂ uygulanan Grup 5'te dokulara BT oranının, diğer gruplara göre anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir. (Tablo 2 ve 3). Ayrıca bakteriyemi; probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda, laparaskopi işlemini takiben 2 ve 6. saatlerde basınçla artış göstermekte olup, en yüksek oranda, yüksek CO₂ basıncı (20 mmHg) uygulanan grupta tespit edilmiştir. Özellikle probiyotik verilmeyen Grup 5'te (20 mmHg CO₂) 2. saatte; diğer gruplara göre anlamlı bir artış saptanmıştır. 6. saatte ise; Grup 5'te (20 mmHg CO₂) ve Grup 3'te (14 mmHg CO₂) hiç basınç uygulanmayan Grup 1'e göre, BT oranında anlamlı bir artış saptanmıştır. Probiyotik verilen gruplarda 6.saatte; Grup 6'da (20 mmHg CO₂), Grup 4'e (14 mmHg CO₂) göre bakteriyemi oranında anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 4 ve 5).

Bu bulgulara dayanarak, laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ miktarının BT ve bakteriyemiye etkileyebilen önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. Probiyotik verilen

gruaplarda da; CO₂ artışı ile 6.saatte Grup 6'da, Grup'4 e göre BT oranında anlamlı, diğer gruplarda göreceli bir artış olması bu sonucu desteklemektedir. Çalışmamızdaki bulguları açıklayıcı nitelikte olan bazı çalışmalarda; CO₂'in intraperitoneal sellüler immünitede supresif etkileri olduğu, ayrıca artmış intraabdominal basınçta stomataların açıldığı ve mezotelial hücre tabakasına karşı oluşan basınç gradienti ile bozulmalar görüldüğü bildirilmiştir. ^{91,92}

Peritonun bakterilerle kontaminasyonunu takiben iki önemli mekanizmayla bakteriler ortamdaki uzaklaştırılırlar. En önemli mekanizma diyafragmatik lenfatiklerdir. İkincisi ise hücresel ve hümoral savunma mekanizmalarıdır. Peritoneal kontaminasyona ilk cevap veren savunma mekanizması, diyafragmatik stomataların genişleyip aktif şekle geçmeleridir. ⁹³

E.coli, fakültatif anaerob bir bakteri olması ve kolay üretilebilir olması, CO₂ ve helyuma dayanabilmesi, aerobik ve anaerobik bakterilerle oluşacak gerçek klinik peritoniti uyarmaması, deneylerde fekal içeriğin inokülasyonunun standardize edilebilmesinden dolayı, deneysel peritonit çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. ⁷¹ Bakteriler peritoneal kaviteye, ya GİS'in perforasyonu ile ya da intraabdominal organların infeksiyonlarından ulaşırlar. Bu nedenle peritoneal bir infeksiyonun bakteriyolojisi de intestinal sistemde var olan normal bakteriyel floraya uygun olarak oluşmaktadır. *E.coli*, fekal içeriğin inokülasyonu ile oluşturulan peritonitlerde kanda %91 oranında üretilen bakteri olmuştur. ⁸⁷ Akut peritonit safhasında dokulara ve kana en sık olarak; *E.coli* başta olmak üzere *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* transloke olurlar. ⁵⁴ Gram negatif bakterilerin daha yüksek oranda transloke olmaları bu bakterilerin fagositoza dirençli intrasellüler patojen olmaları ile açıklanmaktadır. ⁸¹

Demirkan ve ark. ⁸⁶ yaptıkları deneysel çalışmada üreme olan MNL ve kan kültürlerinde en çok izole edilen bakterinin %88,6 oranı ile *E.coli* olduğunu bildirmişlerdir. Nayci ve ark. ⁸⁵ ratlarda yaptıkları çalışmada MNL'a en çok *E.coli*, *Salmonella* spp, *Pseudomonas* spp ve *Enterococcus* spp.'nin transloke olduğunu tespit etmişlerdir. Akyüz'ün ⁵⁴ sıçanlarda yaptığı tez çalışmasında; MNL'de üreyen baskın bakteri olarak *E.coli* saptamıştır.

Gurtner ve ark. ⁹⁴ tavşan batınına 10⁹ cfu/ml *E.coli* verdikten sonra CO₂ ile 12mmHg basıncında pnömoperiton oluşturulan deneklerde BT olmadığı ve peritonitli batında laparoskopinin rahatça kullanılabileceğini bildirmiştir.

Çalışmamızda literatüre uygun bir şekilde ratlara peritonit oluşturmak amacıyla intraperitoneal olarak 2×10^7 cfu/ml *E.coli* (ATCC 25922) suşu inoküle edilmiştir ve yine üreme saptanan bütün doku ve kan örneklerinde *E.coli* izole edilmiştir.

Çalışmamızda bütün gruplardan alınan MLN, dalak ve karaciğer doku örneklerinden yapılan anaerop ekimlerde, anaerop bakteri ürememiştir. Bu bulgular anaerop bakterilerin nadiren transloke olduğunu ve aneropların, bakteri kolonizasyonu ve translokasyonunu kontrol edebileceğini düşündürmektedir.

Literatürde deneysel peritonit sonrası kanda bakteriyeminin saptanmasına yönelik çalışmalar çok eskiye dayanmakta olup, bakteri miktarının saptanması şeklinde değil, bakterinin üretilmesi şeklinde yapılmıştır. Bu çalışmalarda bakteriyel peritonit sonrası kanda bakteri üretme oranı %0–95 arasında değişmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar peritona verilen bakterinin 6. dakikada ductus thoracicus'a geçtiği, maksimal konsantrasyona 2. saatte ulaşmış, 4–5 saatte yüksek düzeyde kalıp, 6. saatten sonra kaybolmaya başladığını göstermiştir.⁹⁵⁻⁷

Evasovich ve ark.⁷³ yaptıkları hayvan çalışmasında; *E.coli* 'ye bağlı peritonitte, laparoskopi sırasında oluşturdukları CO₂ pnömoperiton (15 mmHg) sonrası kana BT'nu araştırmışlar ve 15 dakika aralarla alınan kan kültürlerinin tamamında, kontrol grubuna göre basınç verilen grupta BT gözlendiğini saptamışlardır. Abdominal kaviteye verilen CO₂'in, abdominal basıncı arttırması ile oluşan gaz türbülansının bakteriyemi oranını arttırdığını bildirmişlerdir.

Özmen ve ark.⁹² tavşanlarda yaptıkları çalışmada; 10^9 cfu/ml *E.coli* verilerek peritonit oluşturmuşlardır. Laparoskopi sırasında 60 dakika 10 mmHg CO₂ verilerek oluşturulan pnömoperitonun bakteriyemi oranını arttırdığı, buna bağlı ekstraperitoneal organlara BT'ü arttığını, 6 saat sonra *E.coli*'nin tüm tavşanların karaciğer ve akciğerine BT olduğunu saptamışlardır. Bakteriyel inokülasyondan sonra farklı aralıklarla (0, 1, 2, 4, 6.saatlerde) alınan kan kültürlerinin tamamında BT belirlemişlerdir. Bu nedenle laparoskopik cerrahinin akut peritonitli olgularda kullanılmaması veya dikkatli kullanılması gerektiğini önermişlerdir.

İpek ve ark.² yaptıkları deneysel çalışmada; çekostomiden sonra yaptıkları laparoskopi sırasında oluşturdukları CO₂ pnömoperitonun (4–5 mmHg) bakteriyemi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. 1, 3 ve 6.saatlerde aldıkları kan kültürlerinde zamanla orantılı olarak kana BT'un arttığını saptamışlardır. Bu bulgulara dayanarak peritondaki inflamatuvar olayların agreve olmasına bağlı olarak kana BT oranının arttığını bildirmişlerdir.

Barbaros ve ark.⁹¹ intraabdominal infeksiyonlarda laparoskopi sırasında verilen CO₂ pnömoperitonun (13 mmHg) etkisine baktıkları çalışmada; pnömoperiton oluşturulan grupta 1, 2 ve 3. saatlerde aldıkları kan kültürlerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu bulguları, intraabdominal infeksiyonlarda erken dönemde lenfatik sistem ve ductus thoracicusun kandan bakteriyi temizlemesine bağlamışlardır.

Çalışmamızda laparoskopi sırasında uygulanan CO₂'in bakteriyemi süresine etkisini araştırmak amacıyla, 0, 2 ve 6. saatlerde olmak üzere her denekten üç kan kültürü alındı. Maddaus ve ark.⁹⁵ yüksek intraabdominal basıncın; hücrelerin, partiküllerin ve sıvının temizlenmesinde önemli rolü olan diyafragmada bulunan lakünalarda lokalize büyük terminal lenfatik duktuslara olumsuz etkilerine bağlı olarak; BT oranlarının, saat artışına paralel olarak arttığını, böylece peritonitli olgularda bakteriler, lenfatik sistem ve ductus thoracicus'tan kısa zamanda geçerek kanda yükselebildiğini bildirmişlerdir. Ancak çalışmamızda Grup 3'te; zamana bağlı olarak anlamlı artış olmakla birlikte, diğer gruplarda anlamlı bir artış saptanmamıştır (Tablo 4 ve 5).

Bakteriyel aşırı çoğalma sonucunda bakteriler bağırsak mukozasından geçerek BT'un ilk oluşum yeri olan MLN'larına ulaşırlar. Translokasyon derecesi bakterinin bağırsaktaki yoğunluğu ile ilişkilidir.⁵⁴

Güngör ve ark.⁹⁸ laparotomi sonrası tıkanma ikteri oluşturdukları deneysel modellerde; gram doku başına ortalama bakteri sayısına göre BT'un MLN, karaciğer ve dalak dokusunda anlamlı derecede arttığını saptamışlardır. Ayrıca aerop ekimlerde en yüksek BT oranının MLN'a, anaerop ekimlerde ise en yüksek dalak dokusuna olduğunu tespit etmişlerdir.

Minnen ve ark.⁹⁹ yaptıkları akut pankreatitli rat modellerinde probiyotiklerin BT'na etkisini araştırdıkları çalışmada; MLN, dalak, karaciğer ve pankreas dokularından aldıkları örneklerde, kantitatif kültürlerde probiyotik alan grupta BT'un anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır. Bu sonuçları kantitatif real time PCR ile doğrulamışlardır. Deneysel akut pankreatitte mortalite ve morbiditeyi azalttığından probiyotiklerin kullanımını önermişlerdir.

Polat ve ark.⁷² intraabdominal basıncın BT'a etkilerini araştırdıkları çalışmada; gram doku başına ortalama bakteri sayısına göre kantitatif yöntemle 14 mmHg basınç verilen grupta anlamlı bir fark görülmemiş, 20 ve 25 mmHg basınç verilen grupta ise anlamlı artış tespit etmişler ve basınç artışı ile birlikte doku gramı başına düşen bakteri

sayısında artış saptamışlardır. Sonuç olarak 14 mmHg basınçta BT'un başladığını, 20–25 mmHg basıncında belirginleştiğini saptamışlar. Bunu da portal sistemden daha yüksek olan intraabdominal basıncın splanknik iskemiye yol açması, Gram negatif bakteri translokasyonunun basınç ile birlikte artışını ise intestinal mukoza hasar derecesinin basınçla artmış olması ile açıklamışlardır.

Çalışmamızda doku kültürlerinin doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre mikrobiyolojik analizinde, literatüre uygun bir şekilde BT, CO₂ basıncı ile artmakta ve en yüksek BT'un MLN'a olduğu belirlenmiştir. Probiyotik alan gruplardaki doku gramı başına düşen bakteri sayısına göre BT, probiyotik almayan gruplara oranla anlamlı derecede daha az saptanmıştır. Çalışmamızda ayrıca probiyotik bakterilerin BT'a olumlu etkileri olduğu görülmüştür (Tablo 6). Bu sonuçlara dayanarak laparoskopi öncesi alınan profilaktik probiyotik bakterilerin, BT'u önlemede yararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Probiyotik bakterilerin özellikle barsak mukozası ve immünite üzerine olan etkileri, BT'a neden olabilecek durumların varlığında koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir.⁸⁰ Probiyotikler, GİS'in normal florasında bulunmaları yanında, fermente edilmiş yiyeceklerle de alınmaktadır. Uzun yıllardır gerek terapötik gerekse profilaktik olarak antibiyotikle ilişkili diyare, psödomembranöz kolit, seyahat diyaresinde adjuvan olarak kullanılmakta ve inflamatuvar barsak hastalıkları, alerjik hastalıklar, kolon kanseri önlenmesi basta olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanımına yönelik başarılı araştırmalar sürdürülmektedir.¹⁶

Probiyotik bakterilerin çeşitli patolojik durumlarda BT'u azaltma etkisini araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Saraç'ın⁸⁰ yaptığı deneysel tez çalışmasında; ratlara *L.acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus bulgaricus* kompleksi safra kanalı bağlanmasını takiben verilmiştir. Kana BT oranı; kontrol grubunda %100, probiyotik verilen grupta %20; MLN'da kontrol grubunda %70, probiyotik verilen grupta %30 olarak belirlenmişlerdir. BT oranının probiyotik kullanılan grupta anlamlı derecede azaldığını bildirmişlerdir. Aldemir ve ark.¹⁰⁰ yaptıkları çalışmada; *S. boulandi*'nin bağırsak tıkanıklığı oluşturulan sıçanlarda BT'nu azalttığını göstermişlerdir.

Adawi ve ark.¹⁰¹ deneysel akut karaciğer yaralanması modelinde; farklı probiyotik suşların, BT'u önleme etkisini incelemişlerdir. Hayvanlara rektal yolla *Bifidobacterium animalis*, *L.acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, ve *Lactobacillus plantarum* verilmiş. *Lactobacillus* verilen gruplarda BT'un ve karaciğer hasarının

azaldığı, *Bifidobacterium animalis* kullanılması ile BT'un arttığı ancak karaciğer hasarının etkilenmediği saptanmıştır.

Rayes ve ark.¹⁰² karaciğer tansplantasyonu yapılmış hastalarda yaptıkları klinik çalışmada; *Lactobacillus plantarum 299* (*L. plantarum 299*) kullanımı ile hastalarda infeksiyon oranlarının, antibiyotik kullanımının ve hastanede kalış süresinin azaldığı gösterilmiştir.

Lee ve ark.¹⁰³ yeni doğan hayvan modelinde *Lactobacillus casei GG*'nin BT'a etkisine baktıkları çalışmalarında; BT'u MLN, dalak ve karaciğere göreceli olarak azalttığını bildirmişlerdir. Yenidoğan ve yetişkin GİS'in temel fizyolojik farklılıklarından dolayı probiyotiklerin; BT'a karşı koruyucu etkilerinin farklı olabileceği sonucuna varmışlardır. Buna rağmen yenidoğan ve yetişkinlerde, BT ve sepsis tedavisinde çeşitli probiyotiklerin faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

McVay ve ark.¹⁰⁴ yenidoğan hayvan modellerinde formüle diyetleri karşılaştırdıkları çalışmada; probiyotikli diyetin pulmoner, gastrik ve intestinal kolonizasyonu ile MLN, karaciğer ve dalağa BT'u azalttığını saptamışlardır. Bunu da probiyotik bakterilerin kompetitif inhibisyonla intestinal patojen bakteri üremesini azalttığını, tüm çekal içerik kültürlerinde baskın bir şekilde probiyotik bakteri üremesiyle tespit etmişlerdir.

Anderson ve ark.¹⁰⁵ elektif cerrahi uygulanan hastalarda operasyondan önce ve sonra verdikleri probiyotik bakterilerin, BT prevalansını azaltmadığını bildirmişlerdir. Bunu da probiyotiklerin bakteriyel adezyon ve BT'a karşı koruyuculuğunun hayvan modellerinde önemli olduğunu, fakat hayvanlardan farklı olarak insanlarda alternatif mekanizmalarla (immünomodülasyon) etkili olduğu ile açıklamışlardır.

Mangell ve ark.¹⁰⁶ *L.plantarum 299V*'nin, septik ratlarda BT ve adezyondaki rolünü araştırdıkları çalışmalarında; intraperitoneal *E.coli* lipopolisakariti ile sepsis oluşturdukları ratlarda, *L.plantarum 299V*'nin BT için koruyucu rolü olmadığı fakat intestinal epitelyum hücrelerine bakteri adherensini azalttığını bildirmişlerdir. Karaciğere BT'un MLN'dan yüksek olmasının, sepsiste hepatik RES'in transloke olan bakteriyi temizlemesinde yetersiz kalması olduğunu göstermişlerdir.

Literatürde genellikle cerrahi girişimlerdeki BT oranları ve probiyotik bakterilerin etkisine bakılmış olup, çalışmamızda tanısal amaçla yapılan laparoskopi sırasında CO₂ uygulanmayan ve değişik miktarlarda CO₂ uygulanan ratlarda, probiyotik bakteri kullanımının dokulara ve kana oluşabilecek BT üzerine etkisi araştırıldı. Probiyotik

bakteri olarak 5×10^8 cfu/gün *Bifidobacterium (animalis) lactis* DN 173–010, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* kullanıldı.

Çalışmamızda probiyotik bakterilerin; laparoskopi sırasında özellikle yüksek basınçta CO₂ (20 mmHg) verilen Gruptaki dokulara ve 2 ile 6.saatte kana, 14 mmHg CO₂ verilen Grupta 6. saatte kana BT'u anlamlı, diğer gruplarda ise göreceli azalttığı gözlenmiştir (Tablo 7,8,9,10,11,12). Sonuç olarak; probiyotik bakterilerin yüksek basınçlarda, dokulara BT'u ve bakteriyemiye önlemede daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara dayanarak; probiyotik bakterilerin bağırsak mukoza hasarını önleyerek mukozal hasar derecesinin oldukça düşük olmasına neden olabilecekleri, immünmodülatör etkileri ve patojen mikroorganizmaya karşı öldürücü ve patojenitesini yok edici etkileri ile BT'u azaltmada olumlu rollerinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak çalışmamızda; laparaskopi sırasında deneysel peritonit oluşturulan ratlarda en fazla BT'un MLN'a olduğunu, bu oranının laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ miktarı ile arttığını, doku gramı başına düşen ortalama bakteri sayılarına göre bu sonuçların korelasyon gösterdiğini, bakteriyeminin zamanla anlamlı bir artış göstermediğini ve çalışmamızda kullandığımız probiyotik bakterilerin ise BT oranlarını azaltmada yüksek basınçtaki gruplarda daha etkili olduğu tespit edildi.

Bu sonuçlarımıza göre, laparoskopi sırasında oluşabilecek BT'u önlemek için profiltik olarak probiyotik alınmasını önermekteyiz. Ayrıca farklı probiyotik suşların ve miktarlarının kullanılıp, tanısal amaçlı yapılan laparoskopi sırasında oluşabilecek BT'u önleme etkisini inceleyen ileri çalışmalar yapılmasının daha aydınlatıcı olacağı düşüncesindeyiz.

6. SONUÇLAR

1. Deneysel peritonit modelinde uygulanan laparoskopi sırasında, bakteriyel translokasyon ve bakteriyemi oluşmaktadır.

2. Üreme olan bütün kültürlerde tanımlanan bakteri *E.coli* 'dir.

3. İncelenen doku kültürlerinde anaerobik bakteri ürememiştir.

4. Probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda kalitatif kültürlerde bakteriyel translokasyon, en yüksek oranda mezenter lenf noduna olmaktadır. Doku gramı başına düşen bakteri translokasyonu nun da en çok mezenter lenf noduna olması bu sonucu desteklemektedir.

5. Dokulara bakteriyel translokasyon oranı; probiyotik verilmeyen gruplarda CO₂ miktarı artışıyla bir artış göstermekte olup, probiyotik verilen gruplarda artış tespit edilmemiştir. En yüksek oranda bakteriyel translokasyon probiyotik verilmeyen yüksek basınçta (20 mmHg) CO₂ uygulanan grupta saptanmıştır. Doku gramı başına düşen bakteri translokasyonunun da CO₂ miktarı artışıyla artış göstermesi ve yüksek basınçta (20 mmHg) CO₂ uygulanan probiyotiksiz grupta en yüksek oranda bakteriyel translokasyon saptanması bu sonucu desteklemektedir.

6. Bakteriyemi; probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda, 14 mmHg CO₂ verilen grup hariç zamanla bir artış göstermemektedir.

7. Bakteriyemi; probiyotik verilmeyen gruplarda, zamana göre basınçla artış göstermekte olup; yüksek basınçta (20 mmHg) CO₂ verilen grupta en yüksek oranda bakteriyemi saptanmıştır. Probiyotik verilen gruplarda ise; genel olarak artış tespit edilmemiştir.

8. Probiyotik bakterilerin; dokulardaki bakteriyel translokasyon oranlarını ve bakteriyemi yüksek basınçtaki gruplarda daha etkili şekilde azalttığı saptanmıştır. Probiyotik bakterilerin doku gramı başına düşen bakteri translokasyonunu da azaltması bulgumuzu desteklemektedir.

9. Farklı probiyotik suşların ve miktarlarının kullanılıp, tanısal amaçlı yapılan laparoskopi sırasında oluşabilecek bakteriyel translokasyonu önleme etkisini inceleyen ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

7. ÖZET

Giriş-Amaç: Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan peritonitte, laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ miktarına bağlı oluşabilecek bakteriyel translokasyon ve bu duruma probiyotik bakterilerin etkisi araştırıldı.

Gereç-Yöntemler: Çalışmada 10'arlı 6 grup halinde 60 adet Wistar rat kullanıldı. Grup 2, 4 ve 6'ya 15 gün 5x10⁸ cfu/ml probiyotik bakteri ratların sularına karıştırılarak verildi. Tüm gruptaki ratlara, peritonit oluşturmak amacıyla 2.10⁷ cfu/ml *E.coli* (ATCC 25922) yenidoğan beslenme katateri aracılığı ile intraperitoneal yoldan inoküle edildi. Hemen sonrasında Grup 1 ve 2'ye CO₂ uygulanmadan, Grup 3 ve 4'e 14 mmHg CO₂, Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg CO₂ verilerek laparoskopi uygulandı. 0, 2 ve 6. saatlerde kan örnekleri alındı. 6.saatte ratlar öldürüldükten sonra mezenter lenf nodu, karaciğer ve dalak örnekleri alınıp mikrobiyolojik açıdan kalitatif ve kantitatif metotlarla değerlendirildi.

Bulgular: Laparoskopi sırasında deneysel peritonit oluşturulan ratlarda bakteriyel translokasyon ve bakteriyemi gözlemlendi. Üreme olan bütün kültürlerde *E.coli* tanımlandı. En fazla bakteriyel translokasyonun mezenter lenf noduna olduğu, bakteriyel translokasyon oranının laparoskopi sırasında uygulanan CO₂ miktarı ile artış gösterdiği saptandı. Probiyotik bakterilerin; dokulardaki bakteriyel translokasyon oranlarını ve bakteriyemi yüksek basınçtaki grupta daha etkili şekilde azalttığı saptandı. Bu sonuçların doku gramı başına düşen ortalama bakteri translokasyonu ile korelasyon gösterdiğini tespit edildi.

Sonuçlar: Probiyotik bakterilerin, laparoskopi sırasında oluşabilecek bakteriyel translokasyona karşı proflaktik amaçlı kullanılabileceği sonucuna varıldı. Peritonitli hastaların laparoskopi açısından risk taşımalarından dolayı, bu durum göz önünde bulundurulmalı ve hastalar artan intraabdominal basınca bağlı septik komplikasyon açısından yakından takip edilmelidir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyel translokasyon, peritonit, karbondioksit, pnömoperiton, probiyotik bakteri.

8. SUMMARY

Investigation of the Effects of Probiotic Bacteria on Bacterial Translocation Developing during Diagnostic Laparoscopy (Experimental Study)

Background-Objectives: We aimed to investigate bacterial translocation related to the amount of CO₂ insufflation which is given during laparoscopy and the effect of probiotic bacteria in a peritonitis of experimental animal model.

Material and Methods: In this study 60 Wistar rats were used in six groups which consist of 10 rats. 5x10⁸ cfu/ml probiotic bacteria were given for 15 days in group 2, 4, and 6 as mixing to the water of the rats. 2.10⁷ cfu/ml *E.coli* (ATCC 25922) were inoculated intraperitoneally with newborn feeding catheter to all of the rats in the groups. Thereafter, laparoscopy was applied in all groups. Application in Group 1 and Group 2 was without CO₂; Group 3 and Group 4 with 14 mmHg CO₂ insufflation, and Group 5 and Group 6 with 20 mmHg CO₂ insufflation. Blood samples were taken in 2nd 4th, and 6th hours. Mesenteric lymph node, liver and spleen samples were taken at sixth hour when the rats were sacrificed then evaluated microbiologically with qualitative and quantitative methods.

Results: Bacterial translocation and bacteremia were found in the rats that were applied laparoscopy in peritonitis model. *E. coli* yielded in all of the positive cultures. The most bacterial translocation was found to mesenteric lymph nodes; bacterial translocation rates were found related to increased CO₂ insufflation. It was found that probiotic bacteria were more effective for decreasing bacterial translocation rates and bacteremia in the groups that were given high CO₂ pressure in the laparoscopy. It was also found that these results were correlated with bacterial translocation per gram of tissue.

Conclusions: We concluded that probiotic bacteria can be used as prophylactic agents in laparoscopy for preventing bacterial translocation. It must be considered that the patients with peritonitis have risks for laparoscopic procedures and the patients with peritonitis must be followed carefully or septic complication related to increased intraabdominal pressure.

Key words: Bacterial translocation, peritonitis, carbon dioxide, pneumoperitoneum, probiotic bacteria

9.KAYNAKLAR

1. Stellato TA. History of Laparoscopic Surgery. Surg Clinic. North Am. 1992; 72(5):997-1002
2. İpek T, Paksoy M, Çolak T, Polat E, Uygun N. Effect of Carbon Dioxide Pneumoperitoneum on Bacteremia and Severity and Severity of Peritonitis in an Experimental Model. Surg Endosc. 1998; 12:432-5
3. Volz J, Köster S, Spacek Z, Paweletz N. Characteristic Alterations of the Peritoneum After Carbon Dioxide Pneumoperitoneum. Surg Endosc. 1999;13801–3
4. Aldemir M, Geyik MF, Kokoğlu OF, Büyükbayram H, Hosoğlu S, Yağmur Y. Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. Anz J Surg. 2003; 73(9): 722-6
5. Albillos A, Hera A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis and bacterial translocation: Working out the role of probiotics and antioxidants. J Hepat. 2002; 37: 523-6
6. Ferri MB, Gabriel S, Gavelli A. Bacterial translocation during portal damping for liver resection. A clinical study. Arc Surg 1997, 132: 162-5
7. Reid G. Safety of *Lactobacillus* strains as probiotic agents. Clin Inf Dis. 2002; 35: 349-50
8. Felley C, Michetti P. Probiotics and *Helicobacter pylori*. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 2003; 17:785-91
9. Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J. The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. Pediatr Res. 2005; 58: 625-8
10. Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Gionchetti P, Rizzello F, Caramelli E et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL–1 and IL–10 response in human peripheral blood mononuclear cells. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 38:165-72
11. Vollaard EJ, Clasener HA. Colonization resistance. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:409-14
12. Küçüker MA. Barsak florası ve patojen mikroorganizmalarla etkilesimi. Aktuel Tıp Dergisi 2003; 8:6-8

13. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003; 361(9356):512-9
14. İnanç N, Şahin H, Çiçek B. Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri. *Erciyes Tıp Derg* 2005; 27:122-7
15. Limdi JK, O'Neill C, McLaughlin J. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology?, *World J Gastroenterol* 2006; 12(34):5447-57
16. Kavas ST. Probiyotik Mikroorganizmaların Gastrointestinal Sistem Uyumluluğu ve Enterik Patojenlere Etkisi. Uzmanlık tezi. Pamukkale Tıp fkültesi İnfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Denizli. 2007
17. Mountzouris KC, Gibson GR. Colonization of gastrointestinal tract. *Annales Nestle* 2003; 61:43-54
18. Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2002; 32:105-10
19. Isolauri E, Kirjavalnen PV, Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? *Gut*. 2002;50 (Suppl3):III54-9
20. Vural T, Çelen E. Probiyotikler. *Aktuel Tıp Derg*. 2003; 8:71-4
21. Madara JL. Pathobiology of the intestinal epithelial barrier. *Am J Pathol*. 1990; 137:1273-81
22. Wiest R, Rath HC. Bacterial translocation in the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003; 17:397-425
23. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol*. 1995; 3:149-54
24. Baumgart DC, Dignass AU. Intestinal barrier function. *Curr Opin Clin Nutr Metab. Care* 2002; 5: 685-94
25. Ellis M. Preventing microbial translocation in hematological malignancy. *Br J Hematol*. 2004; 125:282-93
26. Lemaire LCJM, Van Lanschot JJB, Stoutenbeek CP, Van Deventer SJH, Wells CL, Gouma DJ. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or phenomenon stil unproven. *Br J Surg*. 1997; 84: 1340-50
27. Silvio Balzan, Claudio de Almeida Quadros, Roberto de Cleve, Bruno Zilberstein, Ivan Ceconello. Bacterial translocation: Overview of mechanisms and clinical impact. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007; 22:464-71

28. Deitch AE. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? *Surgery* 2002; 131:241-4
29. Wells CL, Erlandsen SL. Bacterial translocation: intestinal epithelial permeability. In: Rombeau JL, Takala J, editors. *Update in Intensive Care and Emergency Medicine, Gut Dysfunction in Critical Illness*. Berlin: Springer-Verlag, 1996;137-45.
30. O'Boyle CJ, MacFie J, Mitchell CJ, Johnstone D, Sagar PM, Sedman PC. Microbiology of bacterial translocation in humans. *Gut* 1998; 42: 29-35
31. Upperman JS, Deith EA, Guo W, Lu Q, Xu DZ. Post-hemorrhagic shock is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils. *Shock*. 1998; 10:407-14
32. Le Voyer T, Cioffi WG, Pratt L, Shippee R, McManus WF, Mason Jr AD et al. Alterations in intestinal permeability after thermal injury. *Arch Surg*. 1992; 127:26-30
33. Campillo B, Pernet P, Bories BN, Richardet JP, Devanlay M, Aussel C. Intestinal permeability in liver cirrhosis: relationship with severe septic complications. *Eur J. Gastroenterol Hepatol*. 1999; 11:755-9
34. Souza DA, Greene LJ. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: effect of glutamine. *Crit Care Med*. 2005; 33:1125-35
35. Wang ZT, Yao YM, Xiao GX, Sheng ZY. Risk factors of development of gut-derived bacterial translocation in thermally injured rats. *World J. Gastroenterol*. 2004; 10:1619-24
36. Woodcock NP, Robertson J, Morgan DR, Gregg KL, Mitchell CJ, MacFie J. Bacterial translocation and immunohistochemical measurement of gut immune function. *J Clin Pathol*. 2001; 54: 619-23
37. Dervenis C, Smailis D, Hatzitheoklitos E. Bacterial translocation and its prevention in acute pancreatitis. *J HBP Surg*. 2003; 10:415-18
38. Runkel NSF, Moody FG, Smith GS. The role of the gut in the development of sepsis in acute pancreatitis. *J Surg Res*. 1991; 51:18-23
39. Penalva JC, Martinez J, Laveda R, Esteban A, Munoz C, Saez J. A study of intestinal permeability in relation to the inflammatory response and plasma endocab IgM levels in patients with acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2004; 38:512-17
40. Larvin M, Switala S, McMahan M. Impaired clearance of circulating macromolecular enzyme inhibitor complexes during severe acute pancreatitis: an important aspect of pathogenesis? *Digestion* 1987;38:32-3
41. Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN, Patch D, Burroughs AK. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis. *Gut*. 2005; 54:556-63

42. Gismondo MR, Drago L, Lombardi A. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Int J Antimicrobial Agents* 1999; 12:287-92
43. Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2006; 49:128-48
44. McNaught CE, MacFie J. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. *Nutrition Research* 2001; 21(1-2):343-53
45. Başyığıt G. Bazı laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği AD. Isparta. 2004
46. Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003; 17: 711-24
47. Karahan ZC, Güvener E. Probiyotikler. *Flora Dergisi* 1999; 4(3):156-62
48. Uzun YS. Probiyotik karakterli *Lactobacillus acidophilus LA-5* ve *Bifidobacterium bifidum BB-12*'nin kaşar peynirinde haşlama ve kuru tuzlama işlemlerine karşı dirençlerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Yüksek lisans Tezi. Harran Üniversitesi fen Bilimleri Enstitüsü Gıda mühendisliği AD. Şanlıurfa. 2006
49. Sakarya S. Probiyotikler ve infeksiyonlardaki yeri. *Klimik 2007 XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı.* Antalya. 2007; 21-4
49. Gariboğlu M. Probiyotikler. *Çocuk Dergisi.* 2002; 2(2):121-27
51. Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W, Procop G. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 6th Philadelphia: WW Lippincott, 2006.
52. Kıyan M. Anaerob, sporsuz, gram pozitif basil ve koklar. Ustaçelebi Ş, editor. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.* Ankara Güneş Kitabevi Ltd Sti. 1999;651-5
53. Kılıç S. Probiyotik özelliğindeki laktik asit bakterileri. Kılıç S, ed. *Süt Endustrisinde Laktik Asit Bakterileri.* Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 2001:363-423
54. Akyüz M. Mekanik barsak Tıkanıklığında Probiyotik Bakterilerin bakteriyel Translokasyon ve Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi. İstanbul Tıp Fakültesi Cerrahi AD. İstanbul. 2004
55. Gönç S, Akalın AS. Yoğurta Canlı Olarak Bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus bifidus*'un Organizma ve Sağlık Üzerine Etkileri, *Gıda Tekn Dergisi.* 1995; 20(2):75-79
56. Vural T, Çelen E. Gastrointestinal Sistemle Dost Mikroorganizmalar ve Probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi.* 2005; 9(3):113-23

57. Gültekin M. Probiyotikler. Ankem dergisi 2004; 18 (Ek2): 87-9
58. Tok E, Aslım B. Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2007; 37(1) :62-8
59. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic bacteria in the treatment of acute *Rotavirus* gastroenteritis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995; 20:333-8
60. İşler M. İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Probiyotikler. Güncel Gastroenteroloji Dergisi.2005; 9(3):134-40
61. Tannock GW. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. Tibtech 1997;15:270-4
62. Castagliuolo LM, Riegler MF, Valenick I, La Mont JT, Pathoulakis C. *Saccharomyces boulardii*; protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa, Infect Immun 1999; 67:302
63. Sanders ME, in't Veld JH: Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. Antonie van Leeuwenhoek 1999; 76:293
64. Fonden R, Mogensen G, Tanaka R, Salminen S. Effect of culture-containing dairy products on intestinal microflora, human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. Bull IDF 2000; 5:352
65. Boylston TR, Vinderola CG, Ghoddusi HB, Reinheimer JA. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards, Int Dairy J. 2004;14(5):375-87
66. Çetintaş G. Probiyotikler. Bitirme Tezi. Süleyman Demirel Ün. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü. Isparta. 2000
67. <http://www.activiaturkiye.com>
68. <http://www.bifidusdigestivum.com>
69. Mogillier J, Srugo I, Lurie M, Ron Shaoul, Coran AG, Shiloni E et al. Effect of probiotics on intestinal regrowth and bacterial translocation after massive small bowel resection in a rat. J Pediatr Surg. 2007; 42:1365-71
70. Mangell P, Lennernas P, Wang M, Olsson C, Ahrne S, Molin G et al. Adhesive capability of *Lactobacillus plantarum* 299V is important for preventing bacterial translocation in endotoxemic rats. APMIS. 2006; 114:611-18
71. Horattas MC, Haller N, Ricchiutti D. Increased transperitoneal bacterial translocation in laparoscopic Surgery. Relative effects of type of gas and insufflation pressure in an animal model of peritonitis. Surg Endosc 2003; 17:1464-7

72. Polat C, Aktepe OC, Akbulut G, Yilmaz S, Arıkan Y, Dilek ON. The Effects of Increased Intra-Abdominal Pressure on Bacterial Translocation. *Yonsei Medical Journal*.2003; 44(2):259-64
73. Evasovich MR, Clark TC, Horrattas MC, Holda S, Tren L. Does pneumoperitoneum during laparoscopy increase bacterial translocation? *Surg Endosc*. 1996;10:1176-9
74. Bilgehan H, Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Bornova. Barış Yayınları. 2002
75. Nayci A, Atis S, Talas DU, Ersoz G. Rigid bronchoscopy induces bacterial translocation: an experimental study in rats. *Eur Respir J* 2003; 749-52
76. Schreckenberger PC, Wong JD. Algorithms for Identification of Aerobic Gram-Negative Bacteria. In: Murray PR. editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, DC,USA:ASM, 2003;337-42
77. Citron DM. Algorithm for Identification of Anaerobic Bacteria. In: Murray PR editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, DC,USA:ASM, 2003;343-8
78. Mangels JI, Anaerobic Bacteriology. In: Isenberg HD editor. *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. Washington DC:ASM.1998;129-67
79. Baron EJ, Peterson LR, Tenover FC. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 9th ed. St. Louis. Mosby, 1994; 284–95
80. Saraç F. Probiyotiklerin ana safra kanalı tıkanıklığında oluşan bakteriyel translokasyon, barsak mukoza değişiklikleri ve serbest oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkisi. Uzmanlık tezi. İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahi AD. İstanbul. 2003
81. Tong S. İntraabdominal hipertansiyon ve erken dönem dekompresyonun intestinal doku iyileşmesi ve bakteriyel translokasyona etkisi. Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi (Vet) AD. Konya. 2007
82. Eizaguirre I. Effect of growth hormone, epidermal growth factor and insulin on bacterial translocation in experimental short bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 2000; 35:692-5
83. Schimpl G, Feierl G, Linni K, Uitz C, Özbey H, Höllwarth ME et al. Bacterial translocation in short-bowel syndrome in rats. *Eur J pediatr Surg* 1999; 9:224-7
84. O'Brien DP, Nelson LA, Kemp CJ, Williams JL, Wang Q, Erwin CR et al: Intestinal permeability and bacterial translocation are uncoupled after small bowel resection. *J Pediatr Surg* 2002; 37:390-4

85. Nayci A, Atis S, Ersoz G, Polat A. Gut decontamination prevents bronchoscopy-induced bacterial translocation. *Respiration*. 2004; 71:66-71
86. Demirkan A, Aksoy M, Kuzu MA, Törüner A. Deneysel ileusta indometasin kullanımının intestinal permeabilite ve bakteriyel translokasyon üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2006; 59:119-27
87. Kayaoğlu H. Laparoskopik cerrahide kullanılan helyum ve karbondioksit gazının peritonitte bakteriyemi ve bakteriyel translokasyona etkileri. Uzmanlık tezi. Gülhane askeri tıp akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi genel cerrahi AD. İstanbul. 2000
88. Lee SW, Southall JC, Gleason NR, Huang EH, Besler M, Whelan RL. Time Course of Differences in Lymphocyte Proliferation Rates After Laparotomy vs CO₂ Insufflation. *Surg Endosc*. 2000; 14:145-8
89. Chekan EG, Nataraj C, Clary EM, Hayward TZ, Brody FJ, Stamat JC et al. Intraperitoneal Immunity and Pneumoperitoneum. *Surg Endosc*. 1999; 13:1135-8
90. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N, Sarris K. Gut Ischemia, Oxidative Stress and Bacterial Translocation in Elevated Abdominal Pressure in Rats. *World J Surg*. 1996; 20:11-6
91. Barbaros U, Özarmağan S, Erbil Y, Bozbora A, Çakar N, Eraksoy H et al. Effect of pneumoperitoneum created through CO₂ insufflation and parameters of mechanical ventilation (PEEP application) on systemic dissemination of intraabdominal infections. *Surg Endosc*. 2004;18: 501-7
92. Özmen MM, Çöl C, Aksoy AM, Tekeli FA, Berberoğlu M. Effect of CO₂ insufflation on bacteremia and bacterial translocation in an animal model of peritonitis. *Surg Endosc*. 1999;13:801-3
93. Leak LV. Interaction of Mesothelium to Intraperitoneal stimulation. Aggregation of Peritoneal Cells. *Lab Invest*. 1983; 48:479-91
94. Gurtner GC, Robertson CS, Chung SCS, Ling TKW, Ip SM, Li AKC. Effect of carbon Dioxide Pneumoperitoneum on bacteremia and Endotoxaemia in an Animal Model of Peritonitis. *Br J Surg*. 1995; 82:844-8
95. Maddaus MA, Wells CL, Platt JL, Condie RM, Simmons RL. Effect of T Cell Modulation on the Translocation of Bacteria from the Mesenteric Lymph Node. *Ann Surg*. April. 1988; 387-97
96. Olofsson P, Nylander G, Olsson P. Endotoxin: Routes of Transport in Experimental Peritonitis. *Am J Surg*. 1986; 151:443-7

97. Nystrom PO, Skau T. Elimination Patterns of *Escherichia coli* and *Bacterioides fragilis* from the Peritoneal Cavity. *Acta Chir Scand.* 1983; 149: 383-8
98. Güngör S, Kurultay N, Şener AG, Er HH, Çökmez A. Deneysel olarak tıkanma ikteri geliştirilen ratlarda bakteriyel translokasyonun gösterilmesi. *Klimik dergisi.* 2003; 3 :121-3
99. Minnen LP, Timmerman HM, Lutgendorff F, Verheem A, Harmsen W, Konstantinov SR et al. Modification of intestinal flora with multispecies probiotics reduces bacterial translocation and improves clinical course in a rat model of acute pancreatitis. *J surg.* 2007; 141:470-80
100. Aldemir M, Kökoğlu OF, Geyik MF, Büyükbayram H. Effects of octreotide acetate and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in an experimental intestinal urve obstruction model of rats. *Tohoku J Exp Med.* 2002; 198(1):1-9
101. Adawi D, Ahrne S, Molin G. Effects of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on bacterial translocation and liver injury in an acute liver injury model. *Int J Food Microbiol.* 2001; 70(3):213-20
102. Rayes N, Seehofer D, Hurveen S, Boucsein K, Muller AR, Serke S et al. Early enteral supply of *Lactobacillus* and fiber versus selective bowel decontamination: a controlled trial in liver trurveplant recipients. *Trurveplantation.* 2002, 74(1):123-7
103. Lee DC, Drongowski RA, Coran AG, Harmon CM. Evaluation of probiotic treatment in a neonatal animal model. *Pediatr Surg Int.* 2000; 16:237-42
104. McVay MR, Boneti C, Habib CM, Keller JE, Kokoska ER, Jackson RJ et al. Formula fortified with live probiotic culture reduces pulmonary and Gastrointestinal bacterial colonization and translocation in a newborn animal model. *J of Peatr Surg.* 2008; 43:25-9
105. Anderson ADG, McNaught CE, Jain PK, McFie J. Randomised clinical trial of synbiotic therapy in elective surgical patients. *Gut.* 2004; 53:241-5
106. Mangell P, Lennernas P, Wang M, Olsson C, Ahrne S, Molin G et al. Adhesive capability of *Lactobacillus plantarum* 299V is important for preventing bacterial translocation in endotoxemic rats. *APMIS.* 2006; 114:611-8

10. RESİMLEMELER LİSTESİ

Şekil-1. Gastrointestinal sistemin değişik kısımlarında bulunan mikroorganizmalar

Şekil-2. Normal ve bozulmuş intestinal bariyer fonksiyonu

Tablo-1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

Resim-1. Laparoskopi uygulamasında kullanılan yenidoğan beslenme katateri

Resim-2. Karbondioksit insüflatörü

Resim-3. İntrakardiyak kan örneğinin alınması

Resim-4. Mikrobiyolojik analiz için alınan karaciğer doku örneği

Resim-5. Mikrobiyolojik analiz için alınan MLN doku örneği

Tablo-2. Probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre BT oranları

Tablo-3. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre BT oranları

Tablo-4. Probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre kan kültürlerinde üreme oranları

Tablo-5. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO₂ miktarına göre kan kültürlerinde üreme oranları

Tablo-6. Doku örneklerindeki doku gramı başına düşen ortalama bakteri sayısı (bakteriyel translokasyon indeksi)

Tablo-7. CO₂ uygulanmayan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Tablo-8. 14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Tablo-9. 20 mmHg CO₂ uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre BT oranları

Tablo-10. CO₂ uygulanmayan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerinde üreme oranları

Tablo-11. 14 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerindeki üreme oranları

Tablo-12. 20 mmHg CO₂ basıncı uygulanan gruplarda probiyotik verilme durumuna göre kan kültürlerindeki üreme oranları

11. ÖZGEÇMİŞ

04.04.1972 yılında Antalya'nın Manavgat ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Antalya'da tamamladıktan sonra 1995 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Bitlis Devlet hastanesi Acil poliklinik, Antalya 112 Acil, Kemer Tekirova Sağlık Ocağı ve Antalya Doyran Sağlık Ocaklarında pratisyen hekim olarak görev yaptım.

2004 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında başladığım uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim.