

## Anne Sütü: Kompozisyonu, Mikroflorası ve Muhafaza Şekilleri

Reyhan Aydın Doğan<sup>1</sup>

İlkay Buran<sup>2</sup>

### Özet

Bebek beslenmesinde en önemli besin kaynağı anne sütüdür. Anne sütünün içeriğindeki mikrobiyotalar bebek bağırsağı için önemli bir mikrobiyota kaynağıdır. Anne sütü farklı türlerde koloni bakterileri içerir. Bu farklı bakteri türleri anne sütünün sağılma ve saklanma şekillerine göre farklılık gösterebilmektedir. Anne sütü sağıldıktan sonra sağlık bakanlığı prosedürüne göre oda ısısında 3 saat, buz dolabının rafında +4°C'de 3 gün ve -18°C'de ise 3 ay depolanabilmektedir. Anne sütündeki mikrobiyal değişim hangi şekilde depolanırsa depolansın değişiklik göstermektedir. Literatürdeki bazı çalışmalar bu değişimin azalma yönünde olduğunu gösterse de bazıları değişim göstermediğini vurgulamıştır. Mikrobiyal değişimin yanı sıra bakteriyel artış da depolanma şeklinden etkilenmektedir. Depolamak için yapılan sağım sırasındaki kontaminasyon anne sütünün bakterisit etkisini azaltmaktadır. Çalışmalar incelendiğinde anne sütünün mümkün ise taze olarak verilmesi, eğer depolanma zorunluluğu var ise uygun koşullarda sağılarak depolanması gerektiğini vurgulamaktadır.

### Giriş

İnsan sütü bebeklerin büyümesinde besinsel ve enerji kazanımı için gerekli bir dizi besleyici ve biyoaktif moleküle sahiptir. Anne sütü besin bileşenlerinin yanı sıra bebeğin bebek bağırsağında kolonizasyona dahil olabilecek çeşitli yararlı mikroorganizmalar içerir (Schwab et al., 2019). Anne sütü ile ilişkili bu mikroplar bebek bağırsağında ilk kolonileşenler

- 1 Dr. Öğretim Üyesi Karabük Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, Karabük, reyhanaydin@karabuk.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0003-4950-3699>
- 2 Dr. Öğretim Üyesi, Karabük Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Karabük, ilkayburan@karabuk.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0001-5089-1284>

arasındadır. Hem kısa hem de uzun vadeli bebek sağlığı sonuçlarını şekillendirmektedir (Fitzstevens et al., 2017). Yenidoğan bebeğin ilk bağırsak kolonizasyonunu oluşturan bu organizmalar aynı zamanda bebeğin bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını etkiler (Fernández et al., 2013; Schwab et al., 2019). Anne sütünün mikrobiyal bileşimi doğum şekline, emzirme süresine, gebelik yaşına, annenin yeniden gebe kalma durumuna, annenin kronik ya da metabolik hastalığının varlığına, annenin yaşına, annenin kişisel beslenme özelliklerine ve coğrafi bölgelere bağlıdır. (Cabrera-Rubio et al., 2016; Khodayar-Pardo et al., 2014; Kumar et al., 2016; Li et al., 2017).

Anne sütünün içeriğinde karbonhidrat, protein, yağ, mineral, vitamin, biyoaktif bileşenler ve su yer almaktadır (Gür, 2007; Ulukaya, 2022). Biyoaktif bileşenler anne sütünün en önemli mikrobiyotasını oluşturmakta ve bu bileşenler temel mikrobiyota olarak adlandırılır (Boix-Amorós et al., 2016; Khodayar-Pardo et al., 2014; Ulukaya, 2022). Çalışmalarda anne sütü içerisinde bulunan bu temel mikrobiyotada iki yüzden daha fazla çeşit bakteri bulunduğu, bu bakterilerden de en çok karşılaşılan türünün de Staphylococcus ve Streptococcus olduğu bildirilmiştir (Boix-Amorós et al., 2016; Collado et al., 2009; Khodayar-Pardo et al., 2014; Ulukaya, 2022). Anne sütünde bu türler olmasına rağmen çalışmalar bebek bağırsağında çoğunlukla Bifidobakterilerin olduğunu saptamıştır (Bağcı, 2015; Urbaniak et al., 2016).

Anne sütünde bulunan bu mikrobiyotaların kaynağı tam olarak saptanmış olmasa da araştırmacılar emzirme sırasında sütün bebek ağızından geri akmasıyla oluşan oral flora, anne bağırsağından meme dokusuna endojen yolla taşınması ve emzirme sırasında annenin meme dokusundan geçiş gibi nedenlerden kaynaklandığını bildirmiştir (Bağcı, 2015; Martín et al., 2003).

Dünya Sağlık Örgütü Bebek ve küçük çocukların beslenmesi için küresel stratejisinde doğumdan yenidoğan bebeklerin sonra ilk altı ay sadece anne sütü ile beslenmesinin gerekliliğine dikkat çekmiş ve ilk altı ay sadece anne sütü ile beslenmeyi önermiştir (WHO, 2001, 2003). Bebeklerin anne sütü alım şekilleri, anneden emme ile direkt alım ve elle ya da göğüs pompasıyla sağım yöntemi ile alımdır (Rasmussen & Geraghty, 2011; Schwab et al., 2019). Direkt anneden emme yoluyla alımda bir depolanma ya da sütü saklama durumu yaşanmazken, sağım yöntemiyle olan alımlarda kalan sütlerin saklama koşullarına uygun olarak depolanma yapılabilmektedir. Anne sütü oda ısısında, buz dolabında ve derin dondurucu da depolanabilmektedir (Marín et al., 2009; Rasmussen & Geraghty, 2011; Sağlık Bakanlığı, 2015). Sağlık bakanlığı temizlik kurallarına uygun olarak sağılan anne sütlerinin saklama koşullarının 3-3-3 kuralına uygun olarak yapılmasını önermektedir.

Bu koşullar, oda ısında 25°C'de 3 saat, buz dolabının rafında +4°C'de 3 gün ve -18°C'de ise 3 aydır (Sağlık Bakanlığı, 2015). Literatürde de anne sütü saklama sıcaklıklarının +4°C ile -20°C arasında olduğu bildirilmiştir (Rasmussen & Geraghty, 2011; Schwab et al., 2019). Anne sütlerinin sağılma sırasındaki temizlik koşulları ile depolanma koşulları anne sütünün mikrobiyotasını etkilemektedir (Cabrera-Rubio et al., 2012; Marín et al., 2009; Rasmussen & Geraghty, 2011). Bu derlemede anne sütü bileşimi, mikrobiyal yükü ve muhafaza koşullarının mikrobiyota değişimine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

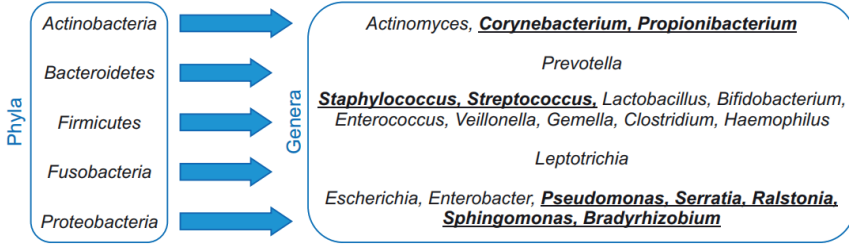
## 1. Anne Sütü Kompozisyonu

Bebeklerin büyüme ve gelişmesini desteklemede anne sütü önemli bir rol oynar (Agostoni et al., 2009; Cheema et al., 2021). İnsan sütü bileşimi karbonhidrat, protein ve yağ gibi mikro besinler ile su bakımından zengindir (Martin et al., 2016). Anne sütü; % 87 su, 107-129 g/L kuru madde, 63-70 g/L laktoz g/L, 9-19 g/L protein, 21-40 g/L yağ, 2,4 - 4,2 g/L toplam kazein, 6,2-8,3 g/L toplam whey (peynir altı suyu) protein, vitamin, hormon, enzim ve minerallerden oluşan karmaşık bir biyolojik sıvıdır (Cimmino et al., 2023). Bebek beslenmesinde, gelişiminde ve bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun korunmasında karbonhidratlar önemli bir rol oynar (Flint, 2012). Anne sütünde laktoz karbonhidrat ana bileşenidir ve diğer memeli sütlerine göre (inek ve eşek sütü) daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. İkinci sırada karbonhidrat bileşeni olan oligosakkaritler doğum sonrası bebeklerin bağırsak mikrobiyotası ve bağışıklık sisteminin gelişiminde önemli bir prebiyotik kaynağıdır (Walsh et al., 2020). Proteinler ise peynir altı suyu ve çeşitli peptidleri içeren kazein fraksiyonlarına ayrılan biyoaktif bileşenlerdir (Liao et al., 2011). Kazeinler  $\alpha$ ,  $\beta$ , gama ve kappa izoformlarında bulunur. En bol bulunan peynir altı suyu proteinleri IgA, laktoferrin,  $\alpha$ -LA ve lizozimdir (Lönnerdal, 2003). IgA toplam immünooglobulinlerin % 90 oranında anne sütünde yer alır ve bağırsak mukoza yüzeyine yapışan patojenleri bağlar (Lönnerdal, 2003). Laktoferrin demir bağlayan bir glikoproteindir patojenlerin büyümesini önlemede etkili olup probiyotik bakterilerin sayıca artmasına teşvik eder (Albenzio et al., 2016). Bebeklerin beslenme sütü ortalama olarak % 4,0 oranında yağ içerir ve yaklaşık %95- 98'i trigliserit formunda bulunur (Khor et al., 2020).

## 2. Anne Sütü Mikrobiyotası

Anne sütü yaşamın ilk 6 ayı ve sonrasındaki bebekler için fonksiyonel bileşenlerin uzun vadeli olumlu etkileri için önerilen beslenme kaynağıdır.

Fonksiyonel gıda bileşenleri sağlığa faydalı biyoaktif bileşenleri olup insan sütü de bir dizi besleyici ve biyoaktif molekülleri içerir. İnsan sütü mikrobiyotası olarak adlandırılan sadece bakteriyel değil aynı zamanda viral, fungal ve arkal bileşenlerin de bulunduğunu güncel çalışmalarda belirtilmektedir (Notarbartolo et al., 2022). Anne sütü mikrobiyotasında bulunan başlıca bakteri filumlarının ve bunların baskın cinslerinin taksonomik sınıflandırması şekil 1’de yer almaktadır (Moubareck, 2021).



Şekil 1. İnsan sütü mikrobiyotası: Başlıca bakteri filumlarının ve bunların baskın cinslerinin taksonomik sınıflandırması (Moubareck, 2021).

Bebek beslenme sütü mikroflorasında *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas* ve *Bradyrhizobium* bakterilerin “çekirdek” bakteriyomunu oluşturan dokuz cinstir ve mikrobiyal süt topluluğunun yaklaşık yarısını temsil ederler (Demmelair et al., 2020; Moubareck, 2021). Her gün Anne sütüyle beslenen bebekler  $1 \times 10^5$  ile  $1 \times 10^7$  arasında bakteriyi alır; bu da bakterilerin yaklaşık %30’unun olduğu anlamına gelir (Selma-Royo et al., 2021). Anne sütünde çeşitli bakteriyel bileşenler mevcuttur ve bunlar arasında *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin (spp.) önemli potansiyel probiyotik rollere sahip olduğu bilinmektedir (Togo et al., 2019). Araştırmacılar süttten potansiyel olarak probiyotik olan üç *Lactobacillus* türü olan *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus salivarius* ve *Lactobacillus fermentum* izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir (Notarbartolo et al., 2022). *Bifidobacterium* spp. türlerinin büyük bir kısmı özellikle anne sütü mikrobiyotası ve diğer insan salgılarında bulunur. Yapılan son çalışmalarda insan sütünden izole edilen *Bifidobacterium breve* ve *Bifidobacterium longum* suşları intestinal mukozada varlıklarının yaygın olduğu tespit edilmiştir (Arbolea et al., 2011; Solís et al., 2010).

## 2.1. Oda Sıcaklığında 25°C'de Depolanan Anne Sütünde Mikrobiyal Değişimi

Ülkemizde ve dünyada süt saklama koşullarına göre oda sıcaklığı ya da sağım sonrası hemen anne sütlerinin mikrobiyal değişimin yaşadığı ve florasında anlamlı derecede değişiklikler görülmüştür (Schwab et al., 2019; Ulukaya, 2022). Ulukaya'nın anne sütünün mikrobiyal değişimini incelediği yüksek lisans tezinde, sağılır sağılmaz analiz edilen anne sütleri ile 25°C'de saklanan anne sütleri arasında mikrobiyal değişim yaşandığı, Bifidobacterium sp. sayısı 0. saat ile kıyaslandığında 3. gün sayımı ile arasında pozitif yönde yüksek düzeyde anlamlı ilişki görülmüştür (Ulukaya, 2022).

Schwab ve arkadaşlarının (2019) taze ve saklanmış olgun anne sütünde ekilebilir mikrobiyotanın karakterizasyonunu inceledikleri çalışmalarında, taze sağılmış anne sütlerinde müsin veya laktoz miktarının anlamlı derecede yüksek olduğu, Bifidobakterileri tespit etmek için kullanılan agar plakalarında üreme olmadığı görülmüştür (Schwab et al., 2019). Fogleman'nın saklama süresi ve sıcaklığının anne sütünün bileşenleri üzerindeki etkisini incelediği tezinde, 24°C'de saklanan anne sütlerinde bakteriyal büyümede azalma olduğu fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Fogleman, 2008).

## 2.2. Buzdolabında +4°C'de Depolanan Anne Sütünde Mikrobiyal Değişimi

Oda sıcaklığında anne sütü saklamanın mikrobiyal değişim üzerine etkisini incelendiğinde çalışmalarda anne sütünde mikrobiyal değişim yaşanmadığı yada mikrobiyal floranın azaldığı görülmüştür (Slutzah et al., 2010; Ulukaya, 2022; Zhang et al., 2020). Slutzah ve ark.'nın anne sütünün buzdolabında saklanmasına yönelik öneriler sağlamak için sütün genel bütünlüğü (bakteri büyümesi, hücre sayısı ve bileşen konsantrasyonları) 4°C'de 96 saatlik saklama sırasında 36 adet taze süt örneğini inceledikleri çalışmalarında, anne sütlerinde smolalite, toplam ve Gram-negatif bakteri koloni sayıları veya sIgA, laktoferrin ve yağ konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Slutzah et al., 2010). Zhang ve ark.'nın buzdolabında saklamanın makrobesinler, toplam aerobik bakteri sayısı (TAMB) ve 0 ila 72 saat arasında sağılmış anne sütündeki süt serum proteomu üzerindeki etkisi konulu araştırmada, beş anne sütünü kapsayan çalışmalarında, toplam aerobik bakterilerin 72. saatte önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Çalışmada anne sütleri sıcaklığı 4°C'ye ayarlanmış standart ev tipi buzdolabında 72 saat saklanmış ve 0, 24, 48 ve 72. saatlerde analiz edilmiştir (Zhang et al., 2020) çalışmanın sonucu!!!. Ulukaya'nın anne sütünün mikrobiyal değişimini

incelediği yüksek lisans tezinde, buzdolabında 4°C'de 72 saat (3 gün) beklettiğimiz numunelerde 0. saat analizine göre, toplam bakteri sayısında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış görülmüştür (Ulukaya, 2022). Literatür incelendiğinde buzdolabı ısısında (4°C'de) 72 saat saklamanın bakteriyel güvenlik açısından önerilmemesi gerektiği görülmüştür.

### **2.3. Derin Dondurucuda -18°C'de Depolanan Anne Sütünde Mikrobiyal Değişimi**

Anne sütündeki toplam bakterilerin dondurucuda saklandıktan sonraki değişimini araştıran çalışmalarda bakteri sayısının azaldığını yada arttığını gösteren yayınlar olmasına rağmen bakteri koloni sayısının değişmediğini bildiren çalışmalarda mevcuttur (Marín et al., 2009; Pandya et al., 2021; Ulukaya, 2022). Pandya ve ark.'nın manuel veya otomatik buz çözme dondurucularında 2 ve 12 hafta boyunca -20 °C'de saklanan insan sütünde bakteri sağkalımı üzerine 36 anne sütünü prospektif inceledikleri çalışmalarında, tüm bakteriler için 2 ila 12 haftalık dondurucu depolamada bakteri koloni sayımlarında önemli düşüşler görülmüştür. Dondurucu türleri arasında koloni sayımlarında fark saptanmamıştır. Çözüldükten sonra, daha fazla bakteri üremesi görülmemiştir (Pandya et al., 2021). Marin ve ark.'nın soğukta muhafazanın anne sütünün doğal bakteri bileşimi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla 34 anne sütünü inceledikleri çalışmalarında, -20°C'de 6 hafta boyunca soğukta saklanmasının anne sütünün hem niceliksel hem de niteliksel bakteri bileşimini önemli ölçüde etkilemediği saptanmıştır (Marín et al., 2009). Ulukaya'nın anne sütünün mikrobiyal değişimini incelediği yüksek lisans tezinde, dondurucuda 3 ay bekletilen 22 anne sütü numunelerindeki toplam bakteri sayısında anlamlı derecede artış olduğu saptanmıştır (Ulukaya, 2022).

### **3. Saklama Koşullarına Göre Değişiklik Gösteren Mikrobiyal İçerikler**

Literatürde saklama koşullarına göre anne sütü mikrobiyal içeriğin değişiklik gösterdiği görülmüştür. Değişiklik gösteren mikrobiyal içerikler farklılık göstermesine rağmen en sık saptanan probiyotik bakterilerin, Lactobacillus ve Bifidobacterium olduğu görülmüştür (Mantziari et al., 2017; Ulukaya, 2022). En sık görülen türlerin yanı sıra Marin ve ark.'nın çalışmasında Staphylococ ve streptococlar hem taze hem de donmuş örneklerde baskın olarak saptanmıştır (Marín et al., 2009). Schwab ve ark.'nın çalışmasında en yaygın bakteri grupları Streptococcus spp. (15/19 numune), Enterobacteriaceae (13/19) ve Lactobacillus/Lactococcus/Pediococcus grubu (12/19) bulunmuştur (Schwab et al., 2019). Fitzstevens

ve ark.'ının insan sütü mikrobiyotasını inceledikleri sistematik derleme çalışmalarında, 12 çalışma incelenmiş, 11 çalışmada (%91,6) insan sütü örneklerinde Streptokok ve Stafilokok tespit edilmiştir. 10 çalışmada (%83,3) Streptokok; 6 çalışmada da (%50) her ikisi de baskın cins olarak saptanmıştır (Fitzstevens et al., 2017).

Anne sütü numunelerinin kontaminasyon durumları incelendiğinde bakteriyel kontaminasyonda saklama koşullarının yanı sıra saklama sürelerinin de etkili olduğu görülmüştür. Anne sütleri kontaminasyonun 2. ve 4. saatte zamanla artışa geçtiği, o da sıcaklığında 2 saatten fazla bekletilen anne sütünün bakteriyel kontaminasyon açısından güvenli olmadığı, oda sıcaklığında belirli bir süreye kadar bakterisit etki göstererek mikroorganizma sayısında azalma olduğu saptanmıştır. Anne sütünün buzdolabında 72 saatten daha uzun saklandığında patojen bakterilerin ürediği görülmüştür. Dondurucuda anne sütü saklamanın anne sütündeki bakterisit etkiyi azalttığı ve koliform grubu bakterilerin sayısını arttırdığını göstermiştir (Fogleman, 2008; Martínez-Costa et al., 2007; Takci et al., 2012; Ulukaya, 2022; Widjaja et al., 2019).

## Sonuç

Anne sütü bileşimi, saklama koşullarının ve saklama süresinin mikrobiyaya üzerinde etkili olduğu, mikrobiyal değişimin yanı sıra bakteriyel değişiminde etkilendiği görülmüştür. Anne sütünün buzdolabında güvenli bir şekilde saklanmasında saklama süresinin 48 saatten daha kısa sürmesi gerektiği görülmüştür. Saklama koşulları ve süresinin yanı sıra anne sütünü sağma şeklinin de mikrobiyal ve bakteriyel değişim üzerinde etkili olduğu yapılan literatür taramasında anlaşılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda anne sütünün taze olarak verilmesi, zorunlu olmadıkça depolanmaması, eğer depolanacak ise uygun koşullarda sağılarak depolanması gerektiği görülmüştür.

## Kaynaklar

- Agostoni, C., Braegger, C., Decsi, T., Kolacek, S., Koletzko, B., Michaelsen, K. F., Mihatsch, W., Moreno, L. A., Puntis, J., & Shamir, R. (2009). Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *49*(1), 112–125. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31819f1e05>
- Albenzio, M., Santillo, A., Stolfi, I., Manzoni, P., Iliceto, A., Rinaldi, M., & Magaldi, R. (2016). Lactoferrin Levels in Human Milk after Preterm and Term Delivery. *American Journal of Perinatology*, *33*(11), 1085–1089. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1586105>
- Arbolea, S., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Solís, G., Salminen, S., De los Reyes-Gavilan, C. G., & Gueimonde, M. (2011). Characterization and in vitro properties of potentially probiotic Bifidobacterium strains isolated from breast-milk. *International Journal of Food Microbiology*, *149*(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.036>
- Bağcı, O. (2015). *Anne Sütü Sarılığının Gelişiminde, Anne Sütü Mikrobiyal İçeriği ve Bebek Barsak Mikrobiyal Florasının Etkisinin Araştırılması ve Bu Bebeklerde Probiyotik Tedavisinin Sarılık Seyrine Etkisinin Değerlendirilmesi* [PhD Thesis]. Bursa Uludag University (Turkey).
- Boix-Amorós, A., Collado, M. C., & Mira, A. (2016). Relationship between milk microbiota, bacterial load, macronutrients, and human cells during lactation. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 492. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00492>
- Cabrera-Rubio, R., Collado, M. C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., & Mira, A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *96*(3), 544–551. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.037382>
- Cabrera-Rubio, R., Mira-Pascual, L., Mira, A., & Collado, M. C. (2016). Impact of mode of delivery on the milk microbiota composition of healthy women. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, *7*(1), 54–60. <https://doi.org/10.1017/S2040174415001397>
- Cheema, A. S., Stinson, L. F., Rea, A., Lai, C. T., Payne, M. S., Murray, K., Geddes, D. T., & Gridneva, Z. (2021). Human milk lactose, insulin, and glucose relative to infant body composition during exclusive breastfeeding. *Nutrients*, *13*(11), 3724. <https://doi.org/10.3390/nu13113724>
- Cimmino, F., Catapano, A., Villano, I., Di Maio, G., Petrella, L., Traina, G., Pizzella, A., Tudisco, R., & Cavaliere, G. (2023). Invited review: Human, cow, and donkey milk comparison: Focus on metabolic effects. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22465>



- Collado, M. C., Delgado, S., Maldonado, A., & Rodríguez, J. M. (2009). Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), 523–528. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02567.x>
- Demmelair, H., Jiménez, E., Collado, M. C., Salminen, S., & McGuire, M. K. (2020). Maternal and perinatal factors associated with the human milk microbiome. *Current Developments in Nutrition*, 4(4), nzaa027. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzaa027>
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., & Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.09.001>
- Fitzstevens, J. L., Smith, K. C., Hagadorn, J. I., Caimano, M. J., Matson, A. P., & Brownell, E. A. (2017). Systematic review of the human milk microbiota. *Nutrition in Clinical Practice*, 32(3), 354–364. <https://doi.org/10.1177/0884533616670150>
- Flint, H. J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition Reviews*, 70(suppl\_1), S10–S13. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00499.x>
- Fogleman, A. D. (2008). *Effect of storage time and temperature on components in human breast milk*.
- Gür, E. (2007). Breastfeeding Anne sütü ile beslenme. *Türk Pediatri Arsivi*, 42.
- Khodayar-Pardo, P., Mira-Pascual, L., Collado, M. C., & Martínez-Costa, C. (2014). Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *Journal of Perinatology*, 34(8), 599–605. <https://doi.org/10.1038/jp.2014.47>
- Khor, G. L., Tan, S. S., Stoutjesdijk, E., Ng, K. W. T., Khouw, I., Bragt, M., Schaafsma, A., Dijck-Brouwer, D. J., & Muskiet, F. A. (2020). Temporal changes in breast milk fatty acids contents: A case study of Malay breastfeeding women. *Nutrients*, 13(1), 101. <https://doi.org/10.3390/nul3010101>
- Kumar, H., Du Toit, E., Kulkarni, A., Aakko, J., Linderborg, K. M., Zhang, Y., Nicol, M. P., Isolauri, E., Yang, B., & Collado, M. C. (2016). Distinct patterns in human milk microbiota and fatty acid profiles across specific geographic locations. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1619. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01619>
- Li, S.-W., Watanabe, K., Hsu, C.-C., Chao, S.-H., Yang, Z.-H., Lin, Y.-J., Chen, C.-C., Cao, Y.-M., Huang, H.-C., & Chang, C.-H. (2017). Bacterial composition and diversity in breast milk samples from mothers living in Taiwan and mainland China. *Frontiers in Microbiology*, 8, 965.

- Liao, Y., Alvarado, R., Phinney, B., & Lönnerdal, B. (2011). Proteomic Characterization of Human Milk Whey Proteins during a Twelve-Month Lactation Period. *Journal of Proteome Research*, *10*(4), 1746–1754. <https://doi.org/10.1021/pr101028k>
- Lönnerdal, B. (2003). Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *77*(6), 1537S-1543S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.6.1537S>
- Mantziari, A., Aakko, J., Kumar, H., Tölkö, S., du Toit, E., Salminen, S., Isolauri, E., & Rautava, S. (2017). The impact of storage conditions on the stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb12 in human milk. *Breastfeeding Medicine*, *12*(9), 566–569. <https://doi.org/10.1089/bfm.2017.0051>
- Marín, M. L., Arroyo, R., Jiménez, E., Gómez, A., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2009). Cold storage of human milk: Effect on its bacterial composition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *49*(3), 343–348. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31818cf53d>
- Martin, C. R., Ling, P.-R., & Blackburn, G. L. (2016). Review of infant feeding: Key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*, *8*(5), 279. <https://doi.org/10.3390/nu8050279>
- Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M. L., Xaus, J., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *The Journal of Pediatrics*, *143*(6), 754–758. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.09.028>
- Martínez-Costa, C., Silvestre, M. D., López, M. C., Plaza, A., Miranda, M., & Guijarro, R. (2007). Effects of refrigeration on the bactericidal activity of human milk: A preliminary study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *45*(2), 275–277. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31805de507>
- Moubarek, C. A. (2021). Human milk microbiota and oligosaccharides: A glimpse into benefits, diversity, and correlations. *Nutrients*, *13*(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/nu13041123>
- Notarbartolo, V., Giuffrè, M., Montante, C., Corsello, G., & Carta, M. (2022). Composition of human breast milk microbiota and its role in children's health. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, *25*(3), 194. <https://doi.org/10.5223/pghn.2022.25.3.194>
- Pandya, S. P., Doshi, H., Codipilly, C. N., Fireizen, Y., Potak, D., & Schanler, R. J. (2021). Bacterial stability with freezer storage of human milk. *Journal of Perinatal Medicine*, *49*(2), 225–228. <https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0131>
- Rasmussen, K. M., & Geraghty, S. R. (2011). The quiet revolution: Breastfeeding transformed with the use of breast pumps. *American Jour-*

- nal of Public Health*, 101(8), 1356–1359. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2011.300136>
- Sağlık Bakanlığı. (2015). *Emzirme Danışmanlığı El Kitabı*. <https://istanbulism.saglik.gov.tr/Eklenti/7712/0/emzirmedanismanligielkitabipdf.pdf>
- Schwab, C., Voney, E., Ramirez Garcia, A., Vischer, M., & Lacroix, C. (2019). Characterization of the cultivable microbiota in fresh and stored mature human breast milk. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2666. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02666>
- Selma-Royo, M., Lerma, J. C., Cortes-Macias, E., & Collado, M. C. (2021). Human milk microbiome: From actual knowledge to future perspective. *Seminars in Perinatology*, 45(6), 151450. <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2021.151450>
- Slutzah, M., Codipilly, C. N., Potak, D., Clark, R. M., & Schanler, R. J. (2010). Refrigerator storage of expressed human milk in the neonatal intensive care unit. *The Journal of Pediatrics*, 156(1), 26–28. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.07.023>
- Solís, G., de Los Reyes-Gavilan, C. G., Fernández, N., Margolles, A., & Guérimonde, M. (2010). Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe*, 16(3), 307–310. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.02.004>
- Takci, S., Gulmez, D., Yigit, S., Dogan, O., Dik, K., & Hascelik, G. (2012). Effects of freezing on the bactericidal activity of human milk. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(2), 146–149. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31824f7889>
- Togo, A., Dufour, J.-C., Lagier, J.-C., Dubourg, G., Raoult, D., & Million, M. (2019). Repertoire of human breast and milk microbiota: A systematic review. *Future Microbiology*, 14(7), 623–641. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0317>
- Ulukaya, B. (2022). *Anne Sütünün Saklanması: Sıcaklık ve Saklama Koşullarının Mikrobiyota Üzerine Etkisi* [Yüksek Lisans Tezi].
- Urbaniak, C., Angelini, M., Gloor, G. B., & Reid, G. (2016). Human milk microbiota profiles in relation to birthing method, gestation and infant gender. *Microbiome*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0145-y>
- Walsh, C., Lane, J. A., van Sinderen, D., & Hickey, R. M. (2020). Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health. *Journal of Functional Foods*, 72, 104074. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104074>
- WHO. (2001). The optimal duration of exclusive breastfeeding: A systematic review. *World Health Organization*.
- WHO. (2003). *Global strategy for infant and young child feeding*. World Health Organization.

- Widjaja, N. A., Hardiyani, K., Hanindita, M. H., & Irawan, R. (2019). Microbiological Assessment of Fresh Expressed Breast Milk on Room Temperature at Dr. Soetomo Hospital Neonatal Unit. *Folia Medica Indonesiana*, 55(2), 30–36. <https://doi.org/10.20473/fini.v55i1.12552>
- Zhang, L., Wu, Y., Ma, Y., Xu, Z., Ma, Y., & Zhou, P. (2020). Macronutrients, total aerobic bacteria counts and serum proteome of human milk during refrigerated storage. *Food Bioscience*, 35, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100562>