T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

BAKTERİYEL GASTORENTERİT ETKENLERİNİN TESPİTİNDE BD MAX ENTERİK BAKTERİYEL PANEL İLE RUTİN KÜLTÜR YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

DR. VİLDAN YAVUZ ÖZER

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ELİF AKTAŞ SEPETCİ

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI

İSTANBUL-2017

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Vildan YAVUZ ÖZER

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimi aldığım süre boyunca, derin bilgi ve birikimleri ile bana her konuda yol gösteren, tezimin hazırlanması sırasında ve eğitimimde karşılaştığım her türlü zorluk karşısında, rehberliğini ve tecrübelerini benden hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif Aktaş Sepetci'ye, eğitimim süresince bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyerek yetişmemde emeği geçen hocam Sayın Doç. Dr. Banu Bayraktar'a, desteklerinden dolayı; idari sorumlumuz Sayın Uzm. Dr. Mehmet Emin Bulut'a, Sayın Uzm. Dr. Ayşe Barış'a ve Sayın Uzm. Dr. Süleyman Pelit'e, değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm değerli laboratuvar çalışanlarına, hayatımın her döneminde desteklerini, sevgilerini hissettiğim, her zaman yanımda olan aileme ve sevgili eşim Özkan'a en içten duygularımla;

Teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Vildan YAVUZ ÖZER

İstanbul, 2017

İÇİNDEKİLER

BEYAN ..... **II**

TEŞEKKÜR ..... **III**

İÇİNDEKİLER ..... **IV**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **X**

SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ ..... **XI**

ÖZET ..... **XV**

ABSTRACT ..... **XVII**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **2**

2.1. Gastroenteritler 2

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma 2

2.1.2. Epidemiyoloji 3

2.1.3. Patogenez 5

2.1.4. Klinik Bulgular 10

2.1.5. Etyoloji 13

2.1.5.1. Akut Gastroenterit Etyolojisi 15

2.1.5.1.1 Viral Gastroenterit Etkenleri 16

2.1.5.1.1.1. Rotavirüs 16

2.1.5.1.1.2. Calicivirüsler 17

2.1.5.1.1.3. Enterik Adenovirüs 19

2.1.5.1.1.4. Astrovirüs 19

2.1.5.1.1.5. Diğer Virüsler 20

2.1.5.1.2. Bakteriyel Gastroenterit Etkenleri 20

2.1.5.1.2.1. Noninflamatuar Etkenler 21

2.1.5.1.2.2. İnflamatuvar Etkenler 21

2.1.5.1.3. Paraziter Gastroenterit Etkenleri 23

2.1.5.1.3.1. *Entamoeba histolytica* 23
2.1.5.1.3.2. *Giardia lamblia* 24
2.1.5.1.3.3. *Cryptosporidium parvum* 25
2.1.5.1.3.4. Diğer Parazitler 25
2.1.5.1.4. Antibiyotiğe Bağlı İshaller 26
2.1.5.2. Kronik Gastroenterit Etyolojisi 27
2.1.6. Laboratuvar Tanısı 27
2.1.6.1. Makroskobik İnceleme 28
2.1.6.2. Mikroskobik İnceleme 29
2.1.6.3. Kültür Yöntemi 30
2.1.6.4. Biyokimyasal Testler 31
2.1.6.4.1. Oksidaz Testi 31
2.1.6.4.2. Hippurat Hidrolizi 32
2.1.6.4.3. Kligler's Iron Agar (KIA) ve Triple Sugar Iron (TSI) Agar Testleri: 32
2.1.6.4.4. Lysine Iron Agar (LIA): 33
2.1.6.4.5. Üreaz Testi: 33
2.1.6.5. Serotiplendirme 33
2.1.6.6. Moleküler Yöntemler 34
2.1.6.6.1. Genomik Yöntemler 34
2.1.6.6.1.1. Monopleks Yöntemler 35
2.1.6.6.1.2. Multipleks Yöntemler 36
2.1.6.6.1.2.1. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel 38
2.1.6.6.1.2.2. Diğer Enterik Paneller 39
2.1.6.6.2. Proteomik Yöntemler 41
2.1.6.6.2.1. Biyosensörler 41
2.1.6.6.2.2. Multipleks Protein/Antijen Belirleme 41
2.1.6.6.3. Kütle Spektrometri Temelli Yöntemler 42

2.1.6.6.3.1. Matriks Aracılı Lazer Dezorbsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı (MALDI-TOF) Kütle Spektrometrisi 43
2.1.6.6.3.2. PZR-Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi 46
2.1.6.7. Diğer Tanı Testleri 46
2.1.7. Tedavi 47
2.2. Bakteriyel Gastroenterit Etkenleri 51
2.2.1. *Campylobacter* Türleri 51
2.2.1.1. Tarihçe 51
2.2.1.2. Sınıflandırma 52
2.2.1.3. Morfoloji 53
2.2.1.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez 54
2.2.1.5. Klinik ve Epidemiyoloji 58
2.2.1.6. Laboratuvar Tanısı 62
2.2.1.7. Tedavi 68
2.2.2. *Salmonella* Türleri 69
2.2.2.1. Tarihçe 69
2.2.2.2. Sınıflandırma 69
2.2.2.3. Morfoloji 70
2.2.2.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez 71
2.2.2.5. Klinik ve Epidemiyoloji 78
2.2.2.6. Laboratuvar Tanısı 82
2.2.2.7. Tedavi 87
2.2.3. *Shigella* Türleri 88
2.2.3.1. Tarihçe 88
2.2.3.2. Sınıflandırma 88
2.2.3.3. Morfoloji 89
2.2.3.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez 90
2.2.3.5. Klinik ve Epidemiyoloji 91
2.2.3.6. Laboratuvar Tanısı 93

2.2.3.7. Tedavi 96
2.2.4. Diğer Bakteriyel Etkenler 96
2.2.4.1. *Escherichia coli* 96
2.2.4.2. *Yersinia enterocolitica* ve *Yersinia pseudotuberculosis* 100
2.2.4.3. *Vibrio cholerae* 102
2.2.4.4. *Plesiomonas shigelloides* 103
2.2.4.5. *Aeromonas* 104
3. GEREÇ VE YÖNTEM 106
3.1. Örneklerin Toplanması ve Gönderilmesi 107
3.2. Makroskobik İnceleme 108
3.3. Direkt Mikroskopi 108
3.4. Bakteri Tanımlanması 108
3.4.1. Kültür Yöntemi 108
3.4.1.1. *Campylobacter* Kültürü 108
3.4.1.2. *Salmonella* ve *Shigella* Kültürü 109
3.4.2. Biyokimyasal Testler 110
3.4.3. Matriks Aracılı Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi ile Bakteri İdentifikasyonu 111
3.4.4. Serotiplendirme 111
3.5. BD MAX EBP 112
3.6. İstatistik Analiz 113
4. BULGULAR 114
4.1. Makroskobik Bulgular 117
4.2. Mikroskobik Bulgular 117
4.3. Dışkı Havuzlama Çalışması 118
4.4. Kültür ve BD MAX EBP Sonuçları 119
5. TARTIŞMA 129
6. KAYNAKLAR 139
7. ETİK KURUL KARARI 157

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Gastroenterite Neden Olan Bazı Enterik Bakteriyel Toksinler 7

Tablo 2. İnce bağırsak tipi ve ileokolonik tip ishalin klinik özellikleri 10

Tablo 3. Çeşitli bakteriyel gastroenterit etkenleriyle oluşan enfeksiyonların başlangıç, süre ve belirtileri 11

Tablo 4. Enfeksiyöz gastroenterit etkenlerinin klinik özellikleri 12

Tablo 5. İshalli hastalıkların başlıca nedenleri 14

Tablo 6. Akut gastroenteritte sık görülen patojenler 15

Tablo 7. Viral gastroenterit etkenlerinin klinik özellikleri 18

Tablo 8. Bakteriyel gastroenterite neden olan başlıca etkenler ve özellikleri 22

Tablo 9. *E. histolytica*, *G. lamblia* ve *Cryptosporidium* spp.'nin rezervuarları, bulaşma şekilleri ve klinik özellikleri 23

Tablo 10. Bakteriyel hedefleri tespit etmek amacıyla tasarlanmış FDA onaylı multipleks panellerin özellikleri 40

Tablo 11. DSÖ tarafından ishal tedavisi için önerilen ORS çözeltisinin bileşimi 47

Tablo 12. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan virüsler ve tedavi seçenekleri 49

Tablo 13. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan bakteriler ve tedavi seçenekleri 50

Tablo 14. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan parazitler ve tedavi seçenekleri 51

Tablo 15. '*Campylobacter*'lerin önemli bazı virulans faktörleri ve ilgili proteinler 55

Tablo 16. Dışkı örneklerinden *C. jejuni* tanımlanması için *Campylobacter* tanımlama akış şeması 67

Tablo 17. *Salmonella* Patojenite Adaları ve Fonksiyonları 71

Tablo 18. *Salmonella* enfeksiyonlarını kolaylaştıran bakteriye ve konağa ait özellikler 76

Tablo 19. *Salmonella* enfeksiyonlarına ait özellikler 78

Tablo 20. Tifoid ve Non-Tifoid *Salmonella* enfeksiyonlarının karşılaştırılması 80

Tablo 21. *Shigella* ve *E. coli*'nin ayırımını sağlayan biyokimyasal testler 89

Tablo 22. *Shigella* cinsine ait bakterilerin biyokimyasal farklılıkları 94

Tablo 23. *E. coli*'nin patojenik tiplerinin epidemiyolojik ve klinik özellikleri, patogenezleri, tanı ve tedavi yaklaşımları 98

Tablo 24. Hastalara Ait Genel Özelliklerin Dağılımı 115

Tablo 25. Hastaların Başvurdukları Klinik/Polikliniklerin Dağılımı 116

Tablo 26. Kültür Yöntemi ile Değerlendirilen Tüm Hastaların Mikroskobi Sonuçları 117

Tablo 27. BD MAX EBP ile Değerlendirilen Tüm Hastaların Mikroskobi Sonuçları..... 117

Tablo 28. Dışkı Havuzlama Tablosu 118

Tablo 29. Tüm Hastalar İçin Cinsiyetlere Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 119

Tablo 30. Tüm Hastaların Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 120

Tablo 31. Örnekleri Korumasız Dışkı Kabında Gelen Hasta Grubunda Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 121

Tablo 32. Örnekleri Taşıma Besiyerinde Gelen Hasta Grubunun Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 122

Tablo 33. Tüm Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 123

Tablo 34. Korumasız Dışkı Kabında Gelen Örnekler İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 124

Tablo 35. Taşıma Besiyerinde Gelen Dışkı Örnekleri İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 125

Tablo 36. Antibiyotik Kullanan Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 126

Tablo 37. Antibiyotik Kullanmayan Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi 127

Tablo 38. Korumasız Dışkı Kabında ve Taşıma Besiyerinde Gelen Dışkı Örneklerinin Kültür Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi 128

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Bir *Campylobacter*'e ait elektron mikrografı 53

Şekil 2. *Salmonella* spp.'ye ait bir bakterinin transmisyon elektron mikroskopisiyle (TEM) çekilen mikrografı 70

Şekil 3. BD MAX EBP için geliştirilen ünitelendirilmiş reaktif stribi 113

SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ

$	: Amerikan doları
%	: Yüzde
£	: Pound
°C	: Santigrad derece
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	: Edinilmiş immün yetmezlik sendromu
BD MAX EBP	: BD MAX enterik bakteriyel panel
BD	: Becton Dickinson
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CadF	: Fibronektin bağlayıcı dış zar proteini
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CapA	: Ototransporter
CAT	: Teikoplanin içeren kömürlü agar
CCDA	: Kansız-kömürlü-sefoperazon-dezoksikolat agar
CCEY	: Sikloserin-sefoksitin-yumurta sarısı
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CDT	: Sitoletal distansiyon toksini
CFU	: Koloni oluşturan birim
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CHCA	: α-siyano-4-hidroksisinnamik asit
CIN agar	: Sefsulodin-irgasan-novobiyosin agar
Cia	: *Campylobacter* invaziv antijenleri
CO_2	: Karbondioksit
CPS	: Kapsüler polisakarit
CRP	: C-Reaktif Protein
CSM	: Vankomisin, sefoperazon ve sikloheksimid içeren kömürlü besiyeri
CVA	: Sefoperazon, Vankomisin, Amfoterisin B
DCA agar	: Dezoksikolat sitrat agar

DHB : 2,5-dihidroksibenzoik asit
dk : Dakika
DNA : Deoksiribonükleik asit
dNTP : Deoksiribonükleotid trifosfat
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EIA : Enzim immünoassay
EIET : EIEC toksin
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
EM : Elektron mikroskobu
EMB agar : Eozin methilene Blue agar
EP : Enteric panel
EUCAST : Europan Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA : ABD Gıda ve İlaç İdaresi
GBS : Guillain Barre Sendromu
GN : Gram negatif
GPP : Gastrointestinal Pathogens Panel
gr : Gram
H_2 : Hidrojen
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
H_2S : Hidrojen sülfür
HCl : Hidroklorik asit
HEK agar : Hektoen enterik agar
HIV : İnsan immün yetmezlik virüsü
HPI : High pathogenity island
HS : Isıya dayanıklı (Heat Stabil)
HÜS : Hemolitik üremik sendrom
Hz : Hertz
IBB agar : İnositol-Brillant yeşili-safra tuzlu agar
Ig : İmmünglobulin
IL : İnterlökin
ipa : İnvazyon plazmid antijeni
kb : Kilobaz

KCl : Potasyum klorür

kDa : KiloDalton

KIA : Kligler's Iron Agar

KKA-A : Ampisilinli koyun kanlı agar

kV : KiloVolt

L : Litre

LIA : Lysine Iron Agar

LPS : Lipopolisakkarit

LT : Isıya-dayanıksız

m/z : Kütle/yük oranı

MAC agar : MacConkey agar

MALDI-TOF MS : Matriks aracılı lazer dezorbsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi

MAP : Mitogen Activated Protein

Mg : Miligram

$MgCl_2$: Magnezyum klorür

$MgSO_4$: Magnezyum sülfat

MIO : Motilite, indol, ornitin

mL : Mililitre

N_2 : Nitrojen

NAAT : Nükleik asit amplifikasyon testleri

NaCl : Sodyum klorür

NAD : Nicotinamide adenine dinucleotide

NDM-1 : New Delhi metallo-betalactamase 1

NKD : Negatif kestirim değeri

NTS : Non-typhoidal *Salmonella*

O_2 : Oksijen

OMP : Hücre zarının dışındaki proteinler

ONPG : O-nitrophenyl-beta-D-galactoside

ORS : Oral rehidrasyon tuzları

Örn. : Örneğin

p.o. : Oral yolla

PAF : Platelet aktive edici faktör
PEB1 : Periplazmik bağlama proteini
PET : Plasmid-aracılığıyla kodlanan toksin
PFGE : Pulsed-field gel electrophoresis
PKD : Pozitif kestirim değeri
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu
PZR-ESİ : PZR-elektrosprey iyonizasyon
RNA : Ribonükleik asit
RpoS : Alternatif Sigma Faktör (σ^S) Regülatörü
RTX : Repeats-In-Toxin
SGI : *Salmonella* genomic island
SOL : Sialize lipooligosakkaritler
SPA : *Salmonella* patojenite adaları
Spv : *Salmonella* virulans plazmidi
SS agar : *Salmonella-Shigella* agar
ST : Isıya-dayanıklı
Stx : Shiga toksin geni
T1SS : Tip 1 sekresyon sistemi
T3SS : Tip 3 sekresyon sistemi
TAT : Turn-around time
TCBS : Tiyosülfat sitrat safra tuzları
TCP : Toxin-coregulated pilus
TEM : Transmisyon elektron mikroskopisiyle
THSK : Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
TM : Trade mark (ticari marka)
TMP-SMX : Trimetoprim-sülfometoksazol
Tris-HCl : Tris-Hidroklorür
TSI : Triple Sugar Iron
TTP : Trombotik trombositopenik purpura
vb. : Ve benzeri
XLD agar : Xylose-lysine desoxy-cholate agar

ÖZET

Yavuz Özer, V. Bakteriyel Gastorenterit Etkenlerinin Tespitinde BD Max Enterik Bakteriyel Panel ile Rutin Kültür Yönteminin Karşılaştırılması. T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2017

Bakteriyel gastroenterit etkenleri, yüksek morbidite ve mortalite oranları ile seyreden, dünya çapında önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadırlar. Bu etkenlerin zamanında tespit edilememesi ampirik antibiyotik tedavilerinde artışa yol açmakta, uygunsuz antibiyotik kullanımıyla dirençli etkenler oluşmakta ve dünya çapında ciddi ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada amaç; bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespitinde, hızlı tanı amacıyla kullanıma sunulan, moleküler yöntem prensibi ile çalışan BD MAX enterik bakteriyel panel (BD MAX EBP) ile standart yöntem olan kültürün etkinliğini karşılaştırmaktır.

Bu amaca yönelik olarak; Ağustos 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gastroenterit ön tanısıyla kültür için gönderilen 292 dışkı örneği değerlendirilmiştir. Bu örneklerin 220'si, korumasız dışkı kaplarına konularak, 72'si ise Cary-Blair taşıma besiyerinin ve korumasız dışkı kaplarının her ikisine de konularak laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnekler, BD MAX EBP ile üretici talimatları doğrultusunda çalışılmış ve eş zamanlı olarak örneklerin *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* için kültürü yapılmıştır. Bakteri tanımlanmasında; biyokimyasal testler, serotiplendirme, antimikrobiyal duyarlılık testleri ve matriks aracılı lazer dezorbsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) kullanılmıştır. Ayrıca dışkı havuzlama çalışması yapılmıştır. Bu amaçla enterik patojenler açısından negatif olduğu bilinen dışkı örnekleri kullanılmıştır. Bu dışkı örnekleri ile bilinen *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* suşları karıştırılarak $1x10^6$ CFU/mL (koloni oluşturan birim/mililitre)'den $1x10^1$ CFU/mL'ye kadar azalan konsantrasyonlarda bakteri içeren dışkı havuzları oluşturulmuştur. Bu örneklerin her biri hem kültürde hem BD MAX EBP ile çalışılmıştır. Böylece bu yöntemlerin saptayabildiği en düşük bakteri konsantrasyonları tespit edilmiştir.

Dışkı havuzlama çalışmasında, *Campylobacter* için, kültürde 10^5 CFU/mL, BD MAX EBP'de ise 10^3 CFU/mL konsantrasyona kadar pozitiflik saptanmıştır. *Salmonella* için, kültür ve BD MAX EBP'nin her ikisinde de 10^4 CFU/mL konsantrasyona kadar pozitiflik saptanmıştır. *Shigella* için ise, kültürde 10^5 CFU/mL, BD MAX EBP'de ise 10^3 CFU/mL konsantrasyona kadar pozitiflik saptanmıştır.

Korumasız dışkı kaplarında laboratuvara ulaştırılan örneklerde; *Campylobacter* için kültür pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kültürde bir (% 0,5), BD MAX EBP'de dokuz (% 4,1) *Campylobacter* saptanmıştır. Kültürde *Salmonella* pozitifliği görülmezken; BD MAX EBP'de üç (% 1,4) *Salmonella* saptanmıştır. *Shigella* için kültür pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında da anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kültürde bir (% 0,5), BD MAX EBP'de 19 (% 8,6) *Shigella* saptanmıştır. Laboratuvara taşıma besiyerinde gelen örneklerde, *Campylobacter* için kültür pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kültürde beş (% 6,9), BD MAX EBP'de

13 (% 18,1) *Campylobacter* saptanmıştır. *Salmonella* için kültür pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Hem kültür sonucunda hem de BD MAX EBP sonucunda iki (% 2,8) *Salmonella* tespit edilmiştir. Hem kültür hem de BD MAX EBP sonucunda *Shigella* pozitifliği görülmemiştir. Örnek gelme şekline göre, taşıma besiyerinde gelen örneklerde kültür sayısı (yedi) ve pozitiflik oranı (% 9,7), korumasız dışkı kabında gelen örneklerin sayısından (iki) ve pozitiflik oranından (% 0,9) anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0,05$).

Sonuç olarak; çalışmamızda elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, moleküler temelli hızlı tespit sistemi olan BD MAX EBP sisteminin, çalışma kapsamındaki gastroenterit etkeni bakterileri tespit etme oranı, geleneksel kültür yöntemlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Moleküler yöntemler etkenin nükleik asidinin gösterilmesi prensibine dayanan, duyarlılıkları ve özgüllükleri yüksek yöntemlerdir. Bu yöntemlerin en önemli avantajı, dışkıda bulunan etken mikroorganizmanın canlı ya da ölü olmasından etkilenmemeleridir. Buna rağmen kültür temelli yöntemler, örneğin laboratuvara gönderme süreçlerinden örnek taşıma yöntemine kadar, etken mikroorganizmanın canlılığını etkileyecek birçok değişkenden etkilenebilmektedir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, dışkı örnek taşıma ortamlarının geleneksel kültür yöntemlerinin sonuçlarını önemli oranda etkilediğini göstermektedir. Buna rağmen moleküler temelli yöntem taşıma ortam değişikliğinden etkilenmemiştir. Ek olarak azalan konsantrasyonlarda bakteri yoğunluğuna sahip dışkı örneklerinde, BD MAX EBP'nin tespit oranlarının kültüre göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların, BD MAX EBP'nin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanımının uygunluğu adına daha fazla çalışmanın yapılması yönünde teşvik edici olduğu ve konu hakkında çalışma yapmak isteyeceklere katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

ABSTRACT

Yavuz Özer, V. Comparison of Routine Culture Methods with BD MAX Enteric Bacterial Panel (BD MAX EBP) for the Detection of Causative Agents of Bacterial Gastroenteritis. T.C. Sağlık Bilimleri University Sisli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital Clinical Microbiology Laboratory. Thesis for Specialization in Medicine. Istanbul. 2017

Bacteriel gastroenteritis causes important global health problems with high morbidity and mortality rates. Delays in identification of these infectious agents causes inappropiate empiric antibiotic use which leads to increase in antibiotic rezistance and serious global economic costs. In this study we aimed to compare the efficiency of standard culture method with BD MAX enteric bacterial panel (BD MAX EBP) that uses molecular testing method for the rapid identification.

A total of 292 stool samples which were obtained from T.C. Sağlık Bilimleri University Sisli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital Clinical Microbiology Laboratory with a diagnosis of gastroenteritis between August 2016 and February 2017 were examined in this study. 220 of these 292 samples were taken in unpreserved stool sample container and the remain 72 samples were taken both in Cary-Blair transport medium and unpreserved stool sample container. Samples were tested with the BD Max EBP assay as directed in the manifacturer's instructions and simultaneously cultures from the samples for *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* were also performed. Biochemical tests, serotyping, antimicrobial susceptibility testing, matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) were used for bacterial identification. Also pooling the stool samples was performed. For this aim the stool samples which were negative for enteric pathogen bacteria, were used. Stool sample pooling was performed by mixing these negative stool samples with *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella* strains. These pools contains bacteria concentration between $1x10^6$ CFU/mL(colony forming unit/mililiter) and $1x10^1$ CFU/mL. Both bacterial culture and BD MAX enteric bacterial panel results from each of these samples were obtained. Thereby the lowest concentrations of bacteria in samples which can be detected by these two methods, were determinated.
By stool sample pooling for *Campylobacter* in culture, a concentration of 10^5 CFU/mL or more and in BD MAX EBP a concentration of 10^3 CFU/mL or more provided positive results. For *Salmonella* in both culture and BD MAX EBP a concentration of 10^4 CFU/mL or more provided positive results. For *Shigella* in culture a concentration of 10^5 CFU/mL or more and in BD MAX EBP a concentration of 10^3 CFU/mL or more provided positive results.

There was a statistically significant difference for *Campylobacter* between positive culture results and BD MAX EBP positive results from samples in unpreserved stool sample container ($p<0.05$). *Campylobacter* was detected in one culture (0.5 %), and nine BD MAX EBP tests (4.1 %). *Salmonella* was not detected in culture but three (1.3 %) BD MAX EBP tests were positive for *Salmonella*. There was also a statistically significant difference for *Shigella* between positive culture results and BD MAX EBP positive results ($p<0.05$). *Shigella* was detected in one culture (0.5 %), and 19 BD MAX EBP tests (8.6 %). There was a statistically significant difference for *Campylobacter* between positive culture results and BD MAX EBP positive results from samples in transport medium

($p<0.05$). *Campylobacter* was detected in five culture (6.9 %), and 13 BD MAX EBP tests (18.1 %). There was not a statistically significant difference for *Salmonella* between positive culture results and BD MAX EBP positive results ($p>0.05$). Two (2.8 %) *Salmonella* positive results were detected on both culture results and BD MAX EBP tests. No any *Shigella* positive results were detected on both culture results and BD MAX EBP tests. Regarding transport materiel of samples, culture positive samples rate (9.7 %) (n:7) of samples which were transported in transport media was significantly higher than culture positive samples rate (0.9 %) (n:2) of samples which were transported in unpreserved stool sample container ($p<0.05$).

As a result; BD MAX EBP, that uses molecular testing method for the rapid identification, was found to be has a higher sensitivity rate for the detection of bacteria causing gastroenteritis when compared with conventional culture methods. Molecular methods has higher sensitivity and spesifity rates which detects the infectious agent's nucleic acide. The most important advantage of these molecular methods is that, dead or alive infectious agents do not change the results. However culture methods can be affected by many processes as obtaining samples and transportation of samples to laboratory which affects the viability of infectious agent. Our findings also show that the stool sample transport methods can significantly affect conventional culture method results. But molecular based system was not influenced by such transport process changes. Besides this, detection rates of BD MAX EBP are found to be higher than the detection rates of culture methods in the samples which contain relative lower concentrations of bacteria. These findings suggest that BD MAX EBP comprises for routine microbiyology laboratory use and further investigations about this issues is needed.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastroenteritler, dünya çapında çeşitli enfeksiyon etkenleriyle salgınlara yol açabilen, akut veya kronik seyirli olabilen, özellikle beş yaş altı çocuklarda ve yaşlılarda yüksek morbidite ve mortalite oranları ile seyreden önemli bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün yayınladığı raporlara göre dünya genelinde, çocukluk çağında her yıl yaklaşık 1,7 milyar diyare vakası görüldüğü raporlanmaktadır. Aynı raporlara göre diyare ile seyreden gastroenteritler, dünya çapında beş yaşın altındaki çocuk ölümlerinde ikinci sırada yer almaktadır ve her yıl bu hastalıklar nedeniyle yaklaşık 525.000 çocuk hayatını kaybetmektedir (1-4).

Gastroenteritler, ince ve kalın bağırsakta tutulum gösteren, *Salmonella*, *Shigella Campylobacter*, *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi bakteriyel etkenlerle birlikte, virüsler, parazitler ve mantarlarla da oluşan hastalıklar grubudur. Sulu veya kanlı, mukuslu dışkılama, bulantı, kusma, karın ağrısı, su ve kilo kaybı, ateş, emilim bozukluğu gibi belirti ve bulgularla seyredebilmektedirler (5, 6).

Hastaların tedavilerinin yönlendirilmesinin yanında, salgınların da kontrol altına alınabilmesi için gastroenterit etkenlerinin laboratuvar tanılarının hızlı ve kesin bir şekilde yapılabilmesi büyük önem arz etmektedir. Bu etkenlerin zamanında tespit edilememesi ampirik antibiyotik tedavilerinde artışa neden olmaktadır. Uygunsuz antibiyotik kullanımıyla antimikrobiyeller karşı direnç gelişmekte ve dünya çapında ciddi ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyöz gastroenterit patojenlerinin klasik laboratuvar testleri ile belirlenmesi zor ve zaman alıcıdır. Etken mikroorganizmanın doğru olarak tespiti ve etkin tedavi uygulamaları, her yıl tüm dünyada 1,5-2 milyon insanın ölümüne yol açan bu ciddi halk sağlığı sorununun morbidite ve mortalitesinin azaltılmasını sağlayacak ve gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçilecektir. Tüm bu nedenlerden dolayı, gastroenterit etkenlerinin tanısı için hızlı ve doğruluğu yüksek tanı yöntemlerinin geliştirilmesi zorunludur (5, 7-10).

Bu nedenlerle çalışmamızda, gastroenterit etyolojisinde önemli bir yeri bulunan bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespitinde, moleküler temelli hızlı BD MAX EBP sistemi ile standart yöntem olan kültürün etkinliğini karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gastroenteritler

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

Gastroenterit terimi, *Helicobacter pylori* gastriti hariç, genellikle ince bağırsağın üst kısımlarında non-inflamatuar veya kolonda inflamatuar şekilde seyreden, mide bulantısı, karın ağrısı, diyare (ishal) ve/veya kusmanın eşlik ettiği çok çeşitli semptomlar kompleksinden oluşan, çoğu zaman ishal ile sinonim olarak kullanılan bir terimdir. Akut, persistan ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır. Akut gastroenterit, genellikle 14 günden kısa sürerken, persistan gastroenterit 14-30 gün arasında seyretmekte, kronik gastroenterit ise 30 gün üzerindeki durumları ifade etmek için kullanılmaktadır (1, 5, 11).

Tam tanımını yapmak zor olsa da, dışkı miktarında ve dışkılama sıklığında artma ya da sulu dışkılama, çoğu kişi tarafından ishal olarak kabul edilmektedir ve ağır ishal durumlarında günde 14 lt kadar sıvı kaybedilebilmektedir (12).

Dizanteri ise, ateş, karın ağrısı ve kanlı, mukuslu dışkılama ile seyreden klinik bir tablodur ve bağırsakta mukoza hasarı ve enfeksiyon etkenlerinin invazyonu görülür. *Shigella*, dizanterinin en sık görülen etkenidir. Bunun dışında, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) ve enteroinvaziv *Escherichia coli* (EIEC) gibi bakteriler de dizanterik ishale neden olabileceği gibi, *Entamobea histolytica* (*E. histolytica*) gibi parazitler de dizanteriye yol açabilmektedir (6, 12, 13).

Gastroenteritler, enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz olarak da sınıflandırılabilmektedir. Gastroenteritlerin çoğu virüsler, bakteriler ve parazitler gibi mikrobiyal etkenlerin etkisi ile oluşurken, daha az bir kısmı da malabsorptif hastalıklar, irritabl bağırsak hastalıkları, inflamatuar bağırsak hastalıkları, bağırsağın düzensiz motilitesi nedeniyle ortaya çıkan hastalıklar, neoplastik tümörlerden salgılanan serotonin ve peptidler, fazla laksatif kullanımı ve çeşitli ilaçların etkisi gibi nedenlerle de ortaya çıkabilmektedir (6, 12).

2.1.2. Epidemiyoloji

DSÖ'nün 2008 yılında yayınladığı raporlara göre, 2004 yılı itibariyle ishalli hastalıklar, tüm dünyada 2,2 milyon insanın ölümüne yol açarak (tüm ölümlerin % 3,7'si) en ölümcül hastalıklar sıralamasında beşinci, en ölümcül enfeksiyon hastalıkları sıralamasında ise ikinci sırada yer almıştır (14). DSÖ'nün 2015 yılı raporlarında ise tüm dünyada 1,39 milyon insanın ölümüne yol açarak (tüm ölümlerin % 2,5'i) en ölümcül hastalıklar sıralamasında sekizinci, en ölümcül enfeksiyon hastalıkları sıralamasında ise yine ikinci sırada yer almaktadır (15). Düşük gelirli ülkelerde ise yılda 1,8 milyon ölümle en ölümcül üçüncü hastalık ishalli hastalıklardır (14). Dünya genelinde, her yıl çocukluk çağında yaklaşık 1,7 milyar diyare vakası görülmekte, diyare ile seyreden gastroenteritler, dünya çapında çocuk morbidite ve mortalitesinde birinci sırada ve beş yaşın altındaki çocuk ölümlerinde ikinci sırada yer almaktadır. Her yıl bu hastalıklar nedeniyle yaklaşık 525.000 çocuk hayatını kaybetmektedir (1). Afrika Kıtası'nda her on çocuk ölümünden dördü ishalli hastalıklar yüzünden olmaktadır (14). İshal nedeniyle meydana gelen ölümlerin % 78'i Afrika ve Güney Doğu Asya ülkelerinde görülmektedir (16).

Gastroenteritlerin çoğu, kontamine gıdalar ve su kaynakları aracılığıyla oluşmaktadır. Dünya genelinde 780 milyon insan temiz içme suyuna ulaşamamakta ve 2,5 milyar kişi yetersiz hijyen koşullarında yaşamaktadır. Enfeksiyon nedeniyle oluşan gastroenteritler, gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır. Gelişmekte olan ülkelerde, üç yaşın altındaki çocuklar her yıl ortalama üç ishal epizodu geçirmektedir. Her epizodla birlikte, büyümek için gerekli besinlerde ciddi kayıplar oluşmaktadır. Bu yüzden, ishal malnütrisyonun önemli bir nedenidir ve beslenme yetersizliği olan çocukların ishalden hasta olma olasılığı da daha yüksek olmaktadır. Kaynakları yetersiz ülkelerde, ishalli hastalıklar yüksek mortalite oranlarına ek olarak, çocuklarda yetersiz beslenme, yavaşlamış büyüme ve bilişsel gelişim bozukluğu gibi olumsuz sonuçlara da yol açmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde, ishal yüzünden ölümler çok daha az olsa da ciddi sağlık maliyetleri yüzünden ishal önemli bir morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (1, 16, 17).

Tüketilen hazır gıdaların yaygınlaşması ve bu sektörün çok büyük boyutlara ulaşması nedeniyle, bir gıdanın değişik patojenler ile kontaminasyonu aynı zamanda çok sayıda ülkede gastroenterit vakalarının görüldüğü salgınlarla sonuçlanabilmektedir. Suyun dışkı yoluyla kirlenmesi sonucu ortaya çıkan salgınlarda ise birden çok türde gastroenterit

patojeni etken olarak rol oynayabilmektedir. Düşük enfektif dozları nedeniyle çok az bir miktarlarının bile salgınlara neden olabilmesi, dış çevreye dayanıklılıkları ve yüksek sekonder atak hızları gibi nedenlerle, bazı enterik patojenler (norovirüsler gibi) potansiyel biyoterörizm ajanı olarak da değerlendirilmektedirler (18).

Gastroenterite neden olan enfeksiyonların sıklığını, tipini ve ciddiyetini belirleyen üç değişken bulunmaktadır. Bunlar; kişiye bağlı özellikler, yaşanılan coğrafi bölge ve mevsimsel özelliklerdir. Gastroenterite yakalanma riski yaş, yaşam şekli, kişisel ve kültürel alışkanlıklara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Asemptomatik taşıyıcılar, gastroenterite yol açan enfeksiyon patojenlerinin kaynağı olabilmektedirler. Yaşanılan ev tipi, nüfus yoğunluğu, hijyen özellikleri ve ulaşılabilen su kaynakları gastroenterit patojenleriyle karşılaşmada önemli belirleyicilerdir. Gastroenterit riskinin ikinci belirleyicisi içinde bulunulan coğrafi bölgedir. Hastalık özellikleri ve enfeksiyon etkenleri iklim ile de değişiklik göstermektedir. Üçüncü belirleyici etken, enfeksiyonu edinme zamanıdır. Serin hava koşullarının seyrettiği bölgelerde sıklıkla gastroenterit enfeksiyonları kış aylarında görülürken, tropikal bölgelerde yaz aylarında ortaya çıkmaktadır (5, 19).

Gastroenterit vakalarında, gelişmekte olan ülkelerde, enterik bakteriler ve parazitler virüslerden daha baskındırlar ve yaz aylarında pik yapmaktadırlar. Endüstriyel açıdan gelişmiş ülkelerde ise akut diyarede baskın olan etkenler virüslerdir ve özellikle kış aylarında görülmektedirler. *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*), *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*), *E. histolytica* ve *Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) gibi parazitler ise gelişmiş ülkelerde yaygın olmamakla beraber, genellikle turistlerde sık görülmektedirler (16).

2.1.3. Patogenez

İshal, dışkı materyalinin kalın bağırsak boyunca hızlı hareketi nedeniyle oluşmaktadır. Enterit ise, genellikle virüs ve bakteri gibi enfeksiyon etkenleri nedeniyle bağırsak sisteminde oluşan inflamasyon için kullanılan bir tanımlamadır. Enfeksiyöz ishallerde genellikle, en sık kalın bağırsak ve ileumun son kısmı tutulmaktadır. Enfeksiyonun bulunduğu her yerde mukoza tahriş olmakta ve bağırsak lümenine salgılama hızı büyük oranda artmaktadır. Ek olarak, bağırsak duvarının motilitesi genellikle kat kat artmaktadır. Sonuç olarak, enfeksiyöz ajanı anüse doğru yıkayıp uzaklaştırmak için büyük miktarlarda sıvı ortama salınmakta ve aynı zamanda güçlü itici hareketlerle bu sıvı ileriye doğru itilmektedir. Bu durum, enfeksiyonun bağırsak yolundan temizlenmesi için önemli bir mekanizmadır (20).

İnsanların sindirim sistemine günde ortalama 8-9 litre (L) sıvı girişi olmaktadır. Bunun 1-2 L'si yiyecek ve içeceklerle alınmakta, kalan kısmı ise, tükürük, mide, pankreas, safra ve ince bağırsak salgılarından gelmektedir. Bu miktarın yaklaşık 5 L kadarı jejunumdan, 2,5 L'si ileumdan, 1-1,5 L kadarı da kalın bağırsaktan emilmektedir. Kalan 100-200 mL sıvı ise dışkının % 60-85'ini oluşturmaktadır. Enfeksiyöz ishallerde, konağa ve mikroorganizmaya ait çeşitli faktörler bulunmaktadır. Mide pH'sının asit özellikte olması, pek çok enfeksiyöz patojene karşı koruma sağlamaktadır. Mide ameliyatı olanlar, aklorhidrisi bulunanlar, enfeksiyöz ishallere duyarlı hale gelirler. Rotavirüs, *Giardia lamblia* (*G. lamblia*) ve *E. histolytica* kistleri mide asidine dayanıklı patojenlerdir. Safra tuzları mikroorganizmaların yüzey yapılarını bozmaktadır. *Enterobacteriaceae* üyeleri ise safra tuzlarına karşı dayanıklı yapıdadırlar. Normal bağırsak florası, enfeksiyöz bağırsak patojenlerinin yerleşimini önlemede rol alırken, normal peristaltik hareketler de ince bağırsakları temizlemede görevlidir. Bağırsakta bulunan lenfoid doku ve salgısal immünglobulin A (IgA), konağı çeşitli patojenlere karşı korumaktadır. Enfeksiyöz patojenler ise bu konak savunma mekanizmalarını aşarak hastalık oluşturmaktadır (21, 22).

İshalli hastalıkların başlıca tipleri şunlardır (12):

- **Sekretuvar ishal:** Plazma gibi izotonik olan intestinal sıvı sekresyonudur ve açlıkta da devam etmektedir.

- **Osmotik ishal:** Bu tip ishale bağırsak lümenindeki katı maddeler tarafından oluşturulan osmotik güçler sebep olur ve açlıkta bu tip ishal azalır.
- **Eksudatif ishal:** Açlık durumunda da devam eden, pürülan, kanlı dışkılama vardır. Dışkılama sıklığı fazla olmakla birlikte, dışkı az veya çok hacimli olabilir.
- **Malabsorbsiyon ishali:** Emilememiş besinler ve fazla yağ (steatore) bulunması nedeniyle, osmolaritesi ve hacmi yüksek dışkılama görülür. Açlıkta bu tür ishaller azalmaktadır.
- **Bağırsak hareketlerinde dengesizlik nedenli ishal:** Dışkının hacmi, şekli ve içeriği oldukça değişkenlik göstermektedir. İshalin diğer tiplerinin ekarte edilmesi gerekmektedir.

Mikrobiyal kaynaklı bağırsak hastalıkları başta ishalle, bazen de ince ve kalın bağırsakta ülseroinflamatuar değişikliklerle karakterizedir (12). Gastrointestinal kanal enfeksiyonu oluşturabilmek için gerekli organizma sayısı türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Örneğin *Shigella* spp. kaynaklı gastroenteritler için oral yoldan 10 - 100 gibi az sayıda bakteri alınması hastalık oluşturmak için yeterli iken, bu sayı *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*) söz konusu olduğunda alınması gerekli bakteri sayısı 10^8 civarındadır. Azalmış gastrik asidite veya altta yatan immünsupresyon varlığında enfeksiyon oluşturmak için daha az sayıda bakteri yeterli olabilmektedir. Enterik patojenler, gastroenteritlere; toksinler aracılığıyla, bağırsak mukozasına adezyon yoluyla veya enterositlere invazyon ile neden olabilmektedirler (23).

Toksin Yoluyla Oluşan Gastroenterit Patogenezi:

Toksik mikrobiyal bileşenler veya ürünler, çeşitli enterik patojenlerin hastalık oluşturma kapasiteleriyle ilişkilidir. Toksin üreten mikroorganizmaların kültür filtratları, organizmaların kendilerinin yokluğunda da gastrointestinal yapıyı veya fonksiyonunu değiştirebilmektedirler. Enterik patojenler tarafından üretilen toksinler nörotoksinler, enterotoksinler ve sitotoksinler olarak sınıflandırılabilir, ancak bazı toksinler birden fazla kategoriye girmektedir (5) (Tablo 1).

Tablo 1. Gastroenterite Neden Olan Bazı Enterik Bakteriyel Toksinler

ENTERİK BAKTERİYEL TOKSİNLER	
NÖROTOKSİN GRUBU	**SEKRETUVAR ENTEROTOKSİN GRUBU**
Clostridium botulinum (*C. botulinum*)	*V. cholerae* (cAMP)
Staphylococcus aureus (enterotoksin b)	Kolera dışı *Vibrio*'lar
Bacillus cereus (*B. cereus*) (emetik toksin)	*E. coli*, LT (cAMP)
SİTOTOKSİN GRUBU	*E. coli*, STa (cGMP)
Shigella	*E. coli*, STb
Clostridium perfringens (*C. perfringens*) (A)	*Salmonella*
Vibrio parahaemolyticus	*Klebsiella*
Staphylococcus aureus	*C. perfringens* (A)
Clostridium difficile (*C. difficile*) (A ve B)	*Shigella dysenteriae*
E. coli (EHEC)	*B. cereus*
(Belirli O grupları: 26, 39, 128, 157)	
C. jejuni	**OLASI ENTEROTOKSİNLER**
Helicobacter pylori	*E. coli*: EIET, EAST, EALT, PET
Bacteroides fragilis	*V. cholerae*: Ace, Zot

cAMP, siklik adenozin monofosfat; cGMP, siklik guanozin monofosfat; EALT, enteroagregativ *E. coli* ısıya-dayanıksız toksin; EAST, enteroagregativ STa-benzeri toxin; EHEC, enterohemorajik *E. coli*; EIEC, enteroinvaziv *E. coli*; EIET, EIEC toksin; LT, ısıya-dayanıksız; PET, plasmid-aracılığıyla kodlanan toksin; ST, ısıya-dayanıklı.

5 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Bakteriyel enterik patojenler bağırsak epitel hücrelerine doğrudan etki edebilen enterotoksinleri (örneğin kolera toksini) sentezleyebilmektedirler. Ayrıca kontamine gıdalar üzerinde önceden oluşmuş toksinlerin (örneğin *B. cereus* toksini) vücuda alınmasıyla da gastroenterit oluşabilmektedir. İnvaziv bakteriler esas olarak bağırsağın mukoza yüzeyine nüfuz ederken, ayrıca enterotoksin de salgılayabilmektedirler. Enterotoksin üretimi laboratuvarda *in vivo* veya *in vitro* testlerle gösterilebilmektedir (23).

Birçok organizma, bağırsakta sıvı ve elektrolit sekresyonuna neden olan enterotoksinleri üretmektedir. Adenilat siklaz gibi hücre içi enzimlerin aktivasyonu ile epitel yüzeyine zarar vermeden sıvı sekresyonuna neden olan sitotonik toksinler olabildiği

gibi; hem mukozal hücre hasarına neden olup, hem de sıvı salınımını siklik nükleotidlerin aktivasyonu tarafından olmayacak biçimde teşvik eden sitotoksik toksinler de bulunmaktadır. *V. cholerae* ve enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) sitotonik tipte enterotoksin üreterek dehidratasyonla seyreden ishale neden olan patojenlere örnektir (24, 25).

İnvazyon Yoluyla Oluşan Gastroenterit Patogenezi:

Toksijenik organizmalar genellikle üst bağırsağı ilgilendirirken, invaziv patojenler alt bağırsağı, özellikle de distal ileumu ve kolonu hedef almaktadır. Histolojik bulgular, lamina propriada akut inflamasyon ile mukozal ülserasyon bulgusu içermektedir. Bu gruptaki başlıca patojenler; *Salmonella* spp., *Shigella* spp., EHEC, EIEC, *Campylobacter* spp. ve *Yersinia* spp.'dir. Bu organizmalar arasında önemli farklılıklar olmasına rağmen, hepsinde başlangıç olayı mukozal invazyondur (23).

Bugüne kadar, invaziv ishalde sıvı üretim mekanizmasını açıklamak için üç teori geliştirilmiştir. Birincisi; sıvı üretimi, en azından hastalığın ilk evresinde bir enterotoksinden kaynaklanabilmektedir. Örneğin, çoğu *Shigella* suşu, kolera toksininden esas olarak farklı bir enterotoksin geliştirir, ancak bağırsak tarafından sıvı ve elektrolit sekresyonuna neden olmaktadır. Benzer bir toksini, *Salmonella* spp.'nin de ürettiği öne sürülmüştür. *Campylobacter* ve *Yersinia* spp.'nin de buna benzer enterotoksinleri ürettiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır. İkinci teoriye göre; invaziv organizmalar, yoğun inflamatuar reaksiyonun oluştuğu bölgelerde, sıvı sekresyonu ve ishale neden olabilecek prostaglandinlerin artmış lokal sentezine yol açmaktadır. Üçüncü teoriye göre, epitel yüzey zarar gördüğünde, sıvıların lümenden geri emilimi önlenmekte, böylece bağırsak lümeninde net bir sıvı birikimi oluşmakta ve bu da diyareye yol açmaktadır (23).

Her biri plazmidler veya kromozomal lokuslar tarafından kontrol edilen bir dizi patojenik faktör, *Salmonella* patojen suşları tarafından kullanılmaktadır. Spesifik plazmidler, bazı suşların; fagositozu takiben makrofajlar içinde hayatta kalabilmesini, *Salmonella*'nın nötrofillere transepitelyal sinyal verebilmesini ve Peyer plaklarından vücuttaki diğer bölgelere bakteriyel yayılımını kodlamaktadır (23, 26).

Shigella spp.'nın invazyonu, invazyonun çeşitli aşamaları ile ilgili çeşitli virulans faktörleri ile de ilişkilidir. Sonuç olarak; bağırsak epitel hücre ölümü, fokal ülserler ve "lamina propria"da inflamasyon görülmektedir. *Shigella*'nın virulans faktörleri, virulansın

tam ifadesi için gerekli olan kromozomal ve plasmid genleri tarafından kodlanmaktadır. Epitel hücrelerinin tanınmasından sorumlu invazyon plazmid antijeninin (*ipa*), invazyon faktörlerinin ve enfekte hücrelerin regülasyonunda görevli pek çok faktörün üretiminden sorumlu çeşitli genetik lokuslar bulunmaktadır. Bağırsağın mukoza yüzeyine penetre olduktan sonra, *Shigella* spp. epitel hücreleri içerisinde çoğalmakta ve basilin hücreden hücreye doğrudan göçüyle enfeksiyon alanı genişlemektedir. *Shigella* türleri nadiren bağırsak mukozasının arkasına penetresyon yapmakta ve bu nedenle genellikle kan dolaşımına invaze olmamaktadırlar (23, 26).

Adezyon Yoluyla Oluşan Gastroenterit Patogenezi:

Enteropatojenler, bağırsağın yüzeyine çok çeşitli mekanizmalar aracılığıyla yapışmaktadırlar. Spesifik fimbriyalar veya adezinler, patojenik bakterilerin mukozal hücrelere bağlanmasına aracılık etmektedirler. Örneğin; *V. cholerae*'nın bağlanmasına TCP (toxin-coregulated pilus) gibi fimbriyal kolonizasyon faktörleri aracılık etmektedir. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) gibi bazı enterik patojenler, bağlanma-yıkım lezyonları olarak bilinen ultrastrüktürel değişikliklere neden olarak, karakteristik bir şekilde bağırsak mukozasına bağlanmakta; bu durum, mikrovillüslerin uzamasına ve tahrip olmasına yol açmaktadır. *G. lamblia* gibi protozoon parazitler ise, ince bağırsağın mukozal yüzeyine yapışmak için ventral bir yapışkan disk kullanmaktadırlar (5, 23, 27, 28).

Mikroorganizmalarla İlgili Diğer Patogenez Mekanizmaları:

Enterotoksin üretimi ve yapışmaya ek olarak, bir dizi ek virulans özelliklerinin varlığının, *V. cholerae* gibi patojenlerin bağırsak mukozasını kolonileştirme yeteneği için kritik öneme sahip olduğu görünmektedir. Bunlardan bazıları motilite, kemotaksi ve müsinaz üretimi gibi özelliklerdir ve bunlardan herhangi birinin eksikliği virulansta azalmaya yol açabilmektedir. *Salmonella* Typhi (*S.* Typhi) gibi bazı enterik patojenlerin virulansının, her ikisi de aşı üretiminde kullanılan Vi antijeni ve lipopolisakkarit hücre duvarı içeriğinin O yan zincirinin polisakkarit bileşimi ile ilişkili olduğu görünmektedir. Bazı enterik patojenler de (EPEC, EHEC, *Salmonella*, *Yersinia* gibi), toksik proteinlerin direkt olarak konakçı sitoplazmasının içine aktarılmasını sağlayan tip III salgılama sistemlerini eksprese etmektedirler. Bunun gibi salgı sistemlerini eksprese eden organizmaların ve ürettikleri efektörlerin listesi hızla genişlemektedir (5, 26, 27, 29).

Organizmaların ishale neden olabilecek yollarından bir diğeri ise, salgısal hücrelerin (kript hücreleri) sağlam halde bırakılarak, mukozadaki emici hücrelerin (villöz uç hücreleri) seçici olarak imha olmasıdır. Villus uç hücrelerini seçici olarak enfekte eden ve hasarlandıran rotavirüs ve norovirüslerin her ikisi de, normal emilim ile ilgili sıvı dengesini bozmakta ve aktif enfeksiyon süresince fırçamsı kenar hücrelerince sentezlenen sindirim enzimlerini azaltmaktadırlar. Özelleşmiş emici yüzeyin böyle dengesiz bir şekilde bozulması, genellikle villöz uç düzleşmesi veya mikrovillus destrüksiyonu ile ilişkili olan bakteri aşırı büyüme sendromları, EPEC enfeksiyonları, giardiyaz, strongiloidiyaz ve kriptosporidiyoz de dahil olmak üzere, diğer ince bağırsak enfeksiyonlarında da rol oynayabilmektedir (5).

2.1.4. Klinik Bulgular

Gastroenteritler, akut (süresi 2 haftadan az), persistan (2-4 hafta) ve kronik (4 haftadan uzun) olarak sınıflandırılmaktadır. Enfeksiyöz gastroenteritlerin çoğu kısa süreli, kendi kendine sınırlanan yapıda ve hastaların doktora gelmesini gerektirmeyecek şiddette seyretmektedir. Klinisyenlere başvuran kişilerin ise hastalıkları genel olarak ince bağırsak veya ileokolonik hastalık olarak ikiye ayrılabilmektedir (Tablo 2) (30).

Tablo 2. İnce bağırsak tipi ve ileokolonik tip ishalin klinik özellikleri

İnce Bağırsak Tipi İshal	İleokolonik Tip İshal
Yaygın periumblikal ağrı	Alt abdominal ağrı
Büyük hacimli dışkılama	Küçük hacimli dışkılama
Sulu dışkılama	Kanlı dışkılama görülebilir
Dehidratasyon	Dehidratasyon
Malabsorbsiyon görülebilir	Tenesmus

30 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

İnce bağırsağı etkileyen patojenler genellikle invaziv olmayan organizmalardır. Bu hastalarda yüksek hacimli sulu dışkılama görülür. Bazı vakalarda malabsorpsiyon görülür ve genellikle dehidratasyona neden olurlar. Hastalarda çoğunlukla periumblikal ağrı ve kramp vardır. Bu kategorideki en yaygın patojenler, norovirüs ve rotavirüs gibi virüslerdir; ayrıca bakterilerden ETEC, *V. cholerae*, toksin-üreten *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve parazitlerden *G. lamblia, Isospora belli* ve *Cryptosporidia* da bu kategoride yer

almaktadır. Bu enteropatojenler tipik olarak enterotoksin üretimi, önceden oluşturulmuş toksinin yutulması ve/veya epitel hücrelerine bakteri adezyonu yoluyla hastalıklara neden olmaktadırlar (30).

Kolonik ve distal ince bağırsak patojenlerinin invaziv olma ihtimalleri daha yüksektir. Abdominal ağrı, daha düşük hacimli ve sık dışkılama görülmektedir. Kan ve rektumun tutulduğu durumlarda tenesmus da görülebilmektedir. Bu tabloya neden olan en yaygın patojenler *Campylobacter, Shigella, Salmonella* ve *Shiga* toksini üreten *E. coli* ve *C. difficile*'dir. Paraziter patojenlerden *E. histolytica*, genellikle ileokolonik bölgede tutulum göstermektedir. Patojenlerin ileokolonik hastalığa neden olduğu başlıca mekanizmalar sitotoksin üretimi, inflamasyona ve ülserasyona yol açan mukozal invazyondur (30). Tablo 3 ve 4'te bazı gastroenterit etkenlerinin kliniği, enfeksiyonun başlangıç, süre ve dışkı özellikleri ile bilgiler sunulmuştur (11, 16).

Tablo 3. Çeşitli bakteriyel gastroenterit etkenleriyle oluşan enfeksiyonların başlangıç, süre ve belirtileri

BAKTERİ	BAŞLANGIÇ	SÜRE	BELİRTİLER
Salmonella	6-48 saat	1-7 gün	B, K, A, KA ± Kan
Campylobacter	*1-10 gün*	*5-14 gün*	*A, BA, KA, B, K* ± Kan
Vibrio	6 saat-4 gün	Kendini sınırlar (3 güne kadar)	B, K, İ
Shigella	1-6 gün	Kendini sınırlar (2-3 gün)	A, KA, İ ± Kan
ETEC	1-3 gün	2-3 gün	İ
Clostridium perfrigens	8-16 saat	24 saatten daha az	KA, İ
EHEC	1-9 gün	1 hafta	B, KA, İ + Kan
C. difficile	4-5 gün	Değişken	A, B, KA, İ ± Kan

Kısaltmalar: İ: İshal, A: Ateş, BA: Baş ağrısı, B: Bulantı, KA: Karın ağrısı, K: Kusma

11 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Tablo 4. Enfeksiyöz gastroenterit etkenlerinin klinik özellikleri

Patojenler	**Klinik Özellikler**					
	Karın ağrısı	Ateş	İnflamasyonun fekal kanıtı	Bulantı, kusma	'Hem' (+) dışkı	Kanlı dışkı
Shigella	++	++	++	++	+/-	+
Salmonella	++	++	++	+	+/-	+
Campylobacter	++	++	++	+	+/-	+
Yersinia	++	++	+	+	+	+
Norovirus	++	+/-	-	++	-	-
Vibrio	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Cyclospora	+/-	+/-	-	+	-	-
Cryptosporidium	+/-	+/-	+	+	-	-
Giardia	++	-	-	+	-	-
E. histolytica	+	+	+/-	+/-	++	+/-
C. difficile	+	+	++	-	+	+
Shiga toksin-üreten *E. coli* (O157: H7 dahil)	++	0	0	+	++	++

Anahtar: ++: Yaygın, +: Görülür, +/-: Değişken, -: Yaygın değil, 0: Atipik/Genellikle bulunmaz

16 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.5. Etyoloji

Gastroenterit etyolojisini daha iyi anlayabilme adına, gruplandırma genellikle akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılarak yapılmaktadır (11). Gastroenteritlerde ishal, genel olarak ana belirti olduğundan, etyolojik incelemelerde bu terim sık olarak karşımıza çıkmaktadır (5, 12, 30).

Enfeksiyöz olan ve olmayan çok çeşitli nedenler ile ortaya çıkan bir belirti olan ishal; kavun, incir gibi gıdalar, alkol, aşırı yemek yeme, laksatif kullanımı gibi insanlarda herhangi bir hastalık görülmediğinde dahi ortaya çıkabildiği gibi, viral, bakteriyel ve parazitik bağırsak enfeksiyonları gibi hastalıklarda, inflamatuar bağırsak hastalıkları, maligniteler, divertikülit gibi enfeksiyöz olmayan bağırsak hastalıklarında, pankreas hastalıkları, laktaz yetmezliği, nontropikal sprue, aşırı bakteri üreme sendromu, Whipple Hastalığı, kısa bağırsak sendromu ve gastrektomi sonrası gibi malabsorbsiyon sendromlarında ve hipertiroidi, diyabetes mellitus gibi bazı sistemik hastalıklarda da ortaya çıkabilmektedir (26).

Gastroenterit etyolojisi, neden olan etkenin toplum ya da hastane kaynaklı olmasına, kişinin yaşına, beslenme durumuna, çevre şartlarına (yaşam şartları, halk sağlığı faktörleri), seyahat durumuna, antibiyotik kullanımına veya kişinin bağışıklık durumuna göre değişiklik göstermektedir. Akut ishallerin çoğundan enfeksiyon etkenleri sorumlu olmaktadır. Akut enfeksiyöz ishaller, gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklarda genellikle fekal oral bulaşma yoluyla ortaya çıkmaktadır. Kontamine gıdalar, iyi pişirilmemiş deniz ürünleri, kontamine sularla yıkanan sebze ve meyveler, asemptomatik enteropatojen taşıyıcıları tarafından hazırlanan gıdaların tüketilmesi de akut enfeksiyöz ishallere yol açmaktadır (12, 22).

Yukarıda sayılan etmenler göz önünde tutularak yapılan bir sorgulama sonunda, öncelikle ishalin enfeksiyon kaynaklı olup olmadığı anlaşılmaya çalışılmalıdır. Gastroenteritlerin çoğundan enfeksiyon hastalıklarının sorumlu olduğu bilinmekle beraber, hastaların % 40-50'sinden enfeksiyona neden olan spesifik bir etken izole edilememektedir (12, 26). İshalli hastalıkların enfeksiyöz olan ve olmayan başlıca nedenleri tablo 5'te özetlenmiştir (12).

Tablo 5. İshalli hastalıkların başlıca nedenleri

SEKRETUVAR İSHAL	EKSUDATİF HASTALIKLAR
***Enfeksiyöz:** Yüzey epitelinde viral hasar • Rotavirüs • Norovirüs • Enterik Adenovirüs ***Enfeksiyöz:** Enterotoksin nedenli • *V. cholerae* • *E. coli* • *B. cereus* • *C. perfringens* *Neoplastik: Tümörden peptidlerin ya da serotoninin salgılanması *Fazla laksatif kullanımı	***Enfeksiyöz:** Epitel tabakasının harabiyeti • *Shigella* suşları • *Salmonella* suşları • *Campylobacter* suşları • *E. histolytica* *İdiyopatik iltihabi bağırsak hastalıkları
OSMOTİK İSHAL	**MALABSORPSİYON**
*Laktuloz tedavisi (Hepatik ensefalopatinin ya da kabızlığın tedavisi için) *Diagnostik işlemler için yapılan sindirim yolu temizliği *Antiasitler ($MgSO_4$ (magnezyum sülfat) ve diğer magnezyum tuzları)	*Bozulmuş lümen içi sindirim *Bozulmuş mukoza hücresi sindirimi *Azalmış ince bağırsak yüzeyi *Lenfatik tıkanma ***Enfeksiyöz:** Mukoza hücrelerinde bozulmuş emilim • *G. lamblia*
	DÜZENSİZ MOTİLİTE
	*Bağırsaklarda kalış süresinin azalması • Sindirim yolunun cerrahi olarak kısaltılması • Nöral disfonksiyon, irritabl kolon sendromu dahil • Hipertiroidizm *Azalmış motilite (bağırsakta kalış süresinin artması) • Cerrahi olarak kör bağırsak segmenti oluşturulması • İnce bağırsakta fazla bakteri üremesi

12 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.5.1. Akut Gastroenterit Etyolojisi

Akut gastroenterite neden olan başlıca etkenler virüsler, bakteriler ve parazitlerdir. Vakaların çoğu kendini sınırlamakta ve 24-48 saat içinde düzelmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde enterik bakteriler ve parazitler virüslerden daha yaygın görülmektedir. Bu ülkelerde ve turistlerde en sık görülen etken ETEC'dir. Parazitler ise akut gastroenteritte, daha az görülen etkenlerdir (16, 30).

Gelişmiş ülkelerde ise akut gastroenteritte en sık görülen etkenler virüslerdir. Bu ülkelerde en sık görülen patojenler norovirüs, rotavirüs ve ETEC'dir (12, 16, 30). Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde akut gastroenteritli vakalarla yapılan bir pilot çalışmada, olguların yaklaşık % 70'inde patojen tespit edilmiş ve bunların da dörtte üçünün norovirüs olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı erişkinlerde, şiddetli gastroenterite neden olan en muhtemel patojenler ise bakterilerdir (30). Tablo 6'da akut gastroenterit vakalarında sık görülen patojenler listelenmiştir (16).

Tablo 6. Akut gastroenteritte sık görülen patojenler

BAKTERİLER	VİRÜSLER	PARAZİTLER
• Diyarojenik *E. coli*	• Rotavirus	**Protozoonlar**
• *C. jejuni*	• Norovirus (calicivirus)	• *C. parvum*
• *V. cholerae O1*	• Adenovirus (serotip 40/41)	• *G. intestinalis*
• *V. cholerae O139*	• Astrovirus	• *Microsporida*
• *Shigella* türleri	• Cytomegalovirus	• *E. histolytica*
• *Vibrio parahaemolyticus*		• *Isospora belli*
• *Bacteroides fragilis*		• *C. cayetanensis*
• *Campylobacter coli (C. coli)*		• *Dientamoeba fragilis*
• *Campylobacter upsaliensis (C. upsaliensis)*		• *Blastocystis hominis*
• *Nontifoidal Salmonellae*		**Helmintler**
• *C. difficile*		• *Strongyloides stercoralis*
• *Yersinia enterocolitica*		• *Angiostrongylus costaricensis*
• *Yersinia pseudotuberculosis*		• *Schistosoma mansoni*
		• *Schistosoma japonicum*

16 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.5.1.1 Viral Gastroenterit Etkenleri

Dünyada görülen hastalık ve ölümlerin büyük bir kısmından sorumlu olan viral gastroenteritler ilk kez 1929'da Zahorsky tarafından "Kış mevsiminin kusma hastalığı" ismiyle tanımlanmıştır. Viral gastroenteritler, hem çocuklarda, hem de yetişkinlerde kendini sınırlayan, akut ishalin dünyadaki en yaygın nedenidir. Gastroenterite neden olan başlıca virüsler; rotavirüs, calicivirüsler (norovirüs ve sapovirüs), enterik adenovirüsler ve astrovirüslerdir. Rotavirüsler ve norovirüsler pediatrik popülasyondaki ishalin en yaygın nedenleridir ve erişkinlerde ise en yaygın görülen viral etken norovirüslerdir. Gelişmekte olan ülkelerde, her yıl yaklaşık bir milyar viral gastroenterit vakası görülmekte ve bu vakaların 3-4 milyon kadarı ölümle sonuçlanmaktadır (26, 31-34). Viral gastroenterit etkenlerinin klinik özelliklerine ait bilgiler tablo 7'de özetlenmiştir (35).

2.1.5.1.1.1. Rotavirüs

Akut gastroenteritin viral etyolojisi antik çağlardan beri küresel bir sorun olarak varlığını sürdürmesine rağmen, ilk insan ilişkili rotavirüs, ancak 1973 yılında Bishop ve arkadaşları tarafından Avustralya'da keşfedilip rapor edilmiştir. Rotavirüsler, Reovirüs ailesine ait, çift sarmal yapıda ribonükleik asit (RNA) bulunduran virüslerdir. Bu virüs, ilk olarak intestinal biyopsi örneklerinde ve akut gastroenteritli çocukların dışkılarında, elektron mikroskobu (EM) aracılığıyla gösterilmiştir. Rota kelimesi Latince kökenlidir ve tekerlek anlamına gelmektedir. EM'de tekerleğe benzer bir yapıda göründüğünden bu ismi almıştır. Rotavirüsler, antijenik yapılarına göre gruplara, subgruplara ve serotiplere ayrılmaktadırlar. Günümüzde tanımlanmış olan 8 grup (A-H) ve dört subgrup (SG I, SG II, SG I + II ve SG nonI-nonII) bulunmaktadır. İnsanlarda yalnızca A, B, C ve H grupları akut gastroenterit etkeni olarak rol oynamaktadır. Bu dört grup arasında, A grubu virüsler, insanlardaki tüm rotavirüs enfeksiyonlarının % 90'ından sorumludurlar (36, 37).

Rotavirüsler, dezenfektanlara ve sabunlara karşı görece olarak dirençli, klor ve klordioksit içeren bileşiklere karşı duyarlı virüslerdir. Bu virüsler, mide asidiyle inaktive olmaktadırlar. Çeşitli eşyalarda, sularda, havuzlarda ve insanların ellerinde yaşama süresinin uzun olması, salgınlar yapabilme gücünü artırmaktadır (26).

Rotavirüs enfeksiyonu, viral gastroenteritin çocuklar arasındaki en yaygın nedenidir ve enfekte çocukların aileleri de sıklıkla hastalandığı için, rotavirüs, erişkinlerde

gastroenteritin ikinci en sık nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (33). Epidemiyolojik çalışmalar, rotavirüslerin ciddi infantil diyare için önemli ajanlar olduğunu ve küçük çocuklarda ve bebeklerde hastaneye yatışların yaklaşık % 35-50'sinden sorumlu olduğunu belirtmektedir. Rotavirüs, tüm dünya genelinde beş yaş altı çocuklarda en sık görülen ciddi akut ishal etkenidir ve tüm dünyada yılda 453.000 civarında ölüme yol açmaktadır. Rotavirüsler günümüzde, insanlar dışında pek çok memeli hayvandan ve kuşlardan da izole edilmiştir (36).

2.1.5.1.1.2. Calicivirüsler

Caliciviridae ailesi, küçük, zarfsız ve pozitif-iplikçikli RNA virüsleridir ve günümüzde, norovirus, sapovirus, lagovirus, nebovirus ve vesivirus olmak üzere beş cinsten oluşmaktadır. Calicivirüsler, insanlarda gastroenterite yol açtığı gösterilen ilk virüslerdir. Virüslerin insanlarda enfeksiyon yaptığına dair ilk açıklamaların tarihi 1901 yılına dayansa da, virüslerin ishal patogenezinde uzun süredir suçlu olabileceğine dair görüşler öne sürülse de, insanlarda ilk viral gastroenterit etkeni olan norovirüsün tanımlanması, 1972 yılında Norwalk (California, ABD)'da meydana gelen bir ishal salgını sonucunda gerçekleşmiştir. Bulunduğu yer nedeniyle norovirüsler, eskiden Norwalk benzeri virüsler olarak isimlendirilmekteydi (16, 33, 34).

Calicivirüsler, özellikle de norovirüsler, büyük çocuklardaki ve yetişkinlerdeki bakteriyel olmayan, besin kaynaklı epidemik gastroenteritlerin ana sorumlusudurlar ve bütün yaş gruplarında, gastroenterit salgınlarında en yaygın görülen enfeksiyon ajanıdırlar (12, 16). Norovirüslerle meydana gelen gastroenterit salgınları daha çok yolcu gemileri, sağlık kuruluşları, okullar ve askeri birliklerden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, salgınlar dışındaki enteropatojen tespit edilebilmiş sporadik ishal vakalarının da büyük bir kısmından, yine norovirüslerin sorumlu olduğu tespit edilmiştir (34, 38).

Tablo 7. Viral gastroenterit etkenlerinin klinik özellikleri

VİRÜS	İNKÜBASYON SÜRESİ	HASTALIK SÜRESİ	SALGIN ÖZELLİKLERİ	MEVSİM	SEMPTOMLAR	HASTALIĞIN GEÇİŞİ
Norovirüs	1-3 gün	4 gün (8 haftaya uzayabilir)	Hastaneler, yolcu gemileri, turistler, askerler, spor takımları, yemekler	Çoğunlukla kış (eskiden "Kış mevsiminin kusma hastalığı" olarak adlandırılırdı, ancak sıcak aylarda da görülmektedir)	İshal ve kusma. Ateş, titreme, halsizlik, baş ağrısı ve kas ağrısı gibi konstitüsyonel semptomlar yaygındır.	İnsandan insana (fekal-oral,damlacık, eşyalar), kabuklu deniz hayvanları, soğuk su ve gıda tüketimi
Rotavirüs	2-6 gün	5-7 gün	Gelişmekte olan ülkelere seyahat, bakım merkezleri, gıdalar, belediye su kaynakları	Kış	İshal, karın ağrısı, konstitüsyonel semptomlar. Bulantı yaygındır, kusma yaygın değildir.	İnsandan insana (fekal-oral, respiratuvar), gıdalar, sular
Sapovirüs	1-4 gün	6 gün	İlköğretim okulları, gıdalar, sağlık kuruluşları	Çoğunlukla kış	En yaygın ishal (% 72-97), sonra kusma (% 56-73). Konstitüsyonel semptomlar yaygın değildir.	İnsandan insana (fekal-oral veya aerosol), deniz kabukluları, gıdalar, sular
Adenovirüs	8-10 gün	5-12 gün	Çocuk bakım merkezleri	Belirgin bir mevsimi yok	Yetişkinlerde nadiren görülür, bu nedenle semptomlar iyi tanımlanamamıştır. İshal kusmadan daha baskındır, respiratuvar semptomlar yaygındır.	İnsandan insana (fekal-oral, respiratuvar?)
Astrovirüs	1,5-2 gün	1-4 gün (Serotip 3 ile daha uzun sürebilir)	Nozokomiyal	Çoğunlukla kış	İshal yaygındır. Bulantı, kusma ve konstitüsyonel semptomlar daha az yaygındır. Yaşlılarda ishal, karın ağrısı, bulantı ve baş ağrısı yaygındır, ateş veya kusma ise yaygın değildir.	İnsandan insana (fekal-oral)

35 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Sapovirüsler de *Caliciviridae* ailesine üye, tanımlanmış beş insan genogrubu bulunan, tüm dünyada görülen gastroenterit vakalarının % 2,2 - 12,7 arasında değişen oranlarda etkeni olan virüslerdir (33, 39). Küçük çocuklarda, şiddetli gastroenterit epizodlarının % 4-19'undan bu virüslerin sorumlu olduğu tespit edildiği için, sapovirüslerin küçük çocuklarda rotavirüsten sonra, ikinci en sık viral gastroenterit etkeni olabileceği düşünülmektedir (16). Sapovirüs salgınları, yıl boyunca görülmekte ve gıda kaynaklı olabilmektedir (40).

2.1.5.1.1.3. Enterik Adenovirüs

Enterik adenovirüslerin, eskiden yalnızca solunum yolu enfeksiyonlarına neden olduğu ve bu yüzden dışkıda da görüldüğü, doğrudan ishale yol açmadığı zannediliyordu. Son yıllarda hastanelerde yatan küçük çocuk ishallerinden sorumlu olduğu tespit edilen bu virüsler, zarfsız, çift sarmal deoksiribonükleik asit (DNA) içeren virüslerdir. Hemaglütinasyon özelliklerine göre 6 (A-F) subgruba ayrılmaktadırlar. İnsanlarda hastalığa yol açabilen 57 farklı serotipi mevcuttur. F subgrubuna ait 31, 40, 41 ve 52. serotipler, gastroenterit yapan başlıca serotiplerdir. Adenovirüsler, 2 yaşın altındaki çocuklarda görülen diyare vakalarının % 1,5-5,4'ünden sorumludurlar (26, 33, 35).

2.1.5.1.1.4. Astrovirüs

Zarfsız, tek sarmal RNA yapısında olan virüslerdir. EM'de yıldız şeklinde görünmektedirler. 8 ayrı antijenik tipi bulunmaktadır. Astrovirüsler, hayvanlarda ishal yapan virüsler olarak kabul edilirken, son yıllarda küçük çocukların hafif ishallerinde de, yaşlı bakım merkezi gibi yerlerdeki erişkinlerdeki ishal salgınlarında da rol aldıkları ortaya çıkmıştır. Dünyada en yaygın bulunan serotipi, Tip 1'dir (26, 41). İshal nedeniyle hastaneye kaldırılan hastalarda tahmini insidansları % 2,5-9 olarak tespit edilmiştir (42). Salgınları özellikle kış mevsiminde ortaya çıkmaktadır (43). Bu virüslerin bulaşması fekal-oral yolla gerçekleşmektedir (35).

2.1.5.1.1.5. Diğer Virüsler

Aichi virüsler, gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinde tespit edilmiş, *Picornaviridae* ailesine ait virüslerdir. Bulundukları günden bu yana, iki vaka kontrol çalışması yapılmıştır. Her iki çalışmada da, diyareli hastaların dışkılarında sadece Aichi virüs tespit edilmesine rağmen, Aichi virüs prevalansları % 1,8 ve % 2 olarak bulunmuş ve bu değerlerin diyare ile anlamlı bir ilişki ortaya koyabilmek için çok düşük oldukları düşünülmüştür (44, 45). *Coronaviridae* ailesinin bir parçası olan torovirüsler ise, 1984 yılında gastroenteritli çocukların ve erişkinlerin dışkılarında tespit edilerek tanımlanmıştır (46). Yapılan çalışmalarda torovirüs enfeksiyonunun ishal ile ilişkisi anlamlı bulunmuş ve bağışıklık sistemi zayıf olan hastalarda ve hastane kaynaklı enfeksiyonu bulunan bireylerde daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (47). Picobirnavirüsler, *Picobirnaviridae*'ye aittir ve ilk olarak gastroenteritli çocukların dışkılarında saptanmıştır (48). Keşfedildiği günden bu yana, virüs birkaç hayvan türünün dışkı örneklerinde de tespit edilmiş ve bu virüslerin, açık bir tür kümelemesi olmadan, genetik açıdan çok çeşitli bir yapıya sahip oldukları gösterilmiştir (49). Bu yüksek sekans çeşitliliği, belirli gastroenterit salgınlarında gözlemlenerek, tek bir enfeksiyon kaynağı belirlenemediği için, picobirnavirüslerin gerçekten salgınlara neden olma ihtimalini sınırlamaktadır (50).

2.1.5.1.2. Bakteriyel Gastroenterit Etkenleri

Bakteriyel gastroenterit etkenleriyle oluşan ishaller, akut enfeksiyöz ishallerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Sporadik veya salgınlar şeklinde ortaya çıkmaktadırlar (22). Genelde klinik olarak, bakteriyel gastroenteritler, viral gastroenteritlerden daha ağır seyretmektedir (12). Bu etkenleri, inflamasyon özelliklerine göre inflamatuar ve noninflamatuar olarak ikiye ayırmak mümkündür (51). Bakteriyel gastroenterite neden olan başlıca etkenler ve özellikleri Tablo 8'de gösterilmiştir (12).

2.1.5.1.2.1. Noninflamatuar Etkenler

Noniflamatuvar diyare, genellikle, ince bağırsağı etkileyen ve mukozaya yapışan patojenlere bağlı olarak meydana gelmekte ve önemli miktarda akut inflamasyona veya mukozal yıkıma neden olmaksızın, enterositin absorbtif ve/veya sekretuvar süreçlerini kesintiye uğratmaktadır. Bu türdeki ishale neden olan bakteriyel etkenlere örnek olarak ETEC, *V. cholerae, S. aureus* ve *C. perfringens* verilebilir. Bu organizmaların birçoğu (örn., *V. cholerae*, ETEC gibi) bağırsak sekresyonunu stimüle eden enterotoksinleri sekrete eder ve böylelikle herhangi bir kanama veya inflamasyon bulgusu olmadan sulu ishal oluşumuna neden olurlar (52). Noniflamatuvar diyare hastalarında genellikle karın krampları, mide bulantısı veya kusma gibi çok az sistemik bulgu veya semptom bulunmaktadır ve ateş genellikle yoktur (51).

2.1.5.1.2.2. İnflamatuvar Etkenler

İnflamatuvar ishale neden olan organizmalar öncelikle alt bağırsağı, özellikle de distal ileumu ve kolonu hedef almaktadır. Bu organizmalar ya zararlı sitotoksinler salgılayarak ya da bağırsak epitelini invaze ederek, akut inflamasyon reaksiyonuna neden olmaktadırlar. Sitotoksin üreten, noninvaziv bakterilere örnek EHEC ve *C. difficile*'dir. Bu bakterilerle enfekte hastalar genellikle, kan veya mukus pasajı olan veya olmayan sulu diyare, karın ağrısı ve düşük dereceli ateş ile kendini göstermektedir. *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. ve EIEC'yi içeren invaziv bakteriler ishal (kanlı veya kansız), karın ağrısı ve ateş ile karakterize inflamatuar ishale neden olmaktadırlar (52, 53).

Tablo 8. Bakteriyel gastroenterite neden olan başlıca etkenler ve özellikleri

ORGANİZMA	PATOJENİK MEKANİZMA	KAYNAK	KLİNİK ÖZELLİKLER
ETEC	Kolera benzeri toksin, invazyon yok	Yiyecekler, su	Turist ishali, sulu ishal
EHEC	Shiga benzeri toksin, invazyon yok	A**z** pişmiş kırmızı et ve et ürünleri	Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom
EPEC	Yapışma ve enterosit hasarı, İnvazyon yok	Soğutulmuş besinler ve su	Sulu ishal, infantlar ve küçük çocuklarda
EIEC	İnvazyon ve lokal yayılım	Peynir, su, insandan insana	Ateş, ağrı, ishal, dizanteri
***Salmonella* spp.**	İnvazyon, translokasyon, lenfoid inflamasyon, çıkan salgınlar	Süt, kırmızı et, yumurta, beyaz et	Ateş, ağrı, ishal ya da dizanteri, bakteriyemi, ekstraintestinal uzak yayılımlı enfeksiyonlar, ortak kaynaktan
***Shigella* spp.**	İnvazyon, lokal yayılım	İnsandan insana, az miktarda	Ateş, ağrı, ishal, dizanteri, epidemik bakteri enfeksiyonu için yayılım yeterlidir
Campylobacter	Toksinler, invazyon	Süt, beyaz et, hayvanlar ile kontakt	Ateş, ağrı, ishal, dizanteri, yiyecek kaynakları, hayvan rezervuarları
Yersinia enterocolitca	İnvazyon, translokasyon, lenfoid inflamasyon, yiyecek kaynakları	Süt, domuz eti	Ateş, ağrı, ishal, mezenterik lenfadenit, ekstraintestinal enfeksiyonlar, uzak yayılım
***V. cholerae* ve diğer *Vibrio* suşları**	Enterotoksin, invazyon yok	Su, kabuklu deniz hayvanları, insandan insana yayılım	Sulu ishal, kolera, pandemik yayılım
C. difficile	Sitotoksin, lokal invazyon	Hastane ortamında yayılım	Ateş, ağrı, kanlı ishal, antibiyotik kullanımından sonra
C. perfringens	Enterotoksin, invazyon yok	Kırmızı et, beyaz et, balık	Sulu ishal, yiyecek kaynakları
Mycobacterium tuberculosis	İnvazyon, nekrozlu mural inflamasyon odakları ve skar oluşumu	Kontamine süt, öksürük ile gelen mikroorganizmaların yutulması	Kronik karın ağrısı, malabsorbsiyon, striktür, perforasyon, fistüller, kanama

12 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.5.1.3. Paraziter Gastroenterit Etkenleri

E. histolytica, *G. lamblia* (*G. intestinalis* ve *Giardia duodenalis* ile eş anlamlıdır) ve *Cryptosporidium* spp., sırasıyla amebiyaz, giardiyaz ve kriptosporidiyaz olarak adlarılan gastronterit tablolarının etken maddeleridir. Bu organizmalar, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, diyare ile ilişkili en yaygın bağırsak protozoonları arasında yer almaktadırlar. Tablo 9'da, bu organizmaların rezervuarları, bulaşma şekilleri ve klinik özellikleri açıklanmaktadır (54).

Tablo 9. *E. histolytica*, *G. lamblia* ve *Cryptosporidium* spp.'nin rezervuarları, bulaşma şekilleri ve klinik özellikleri

ORGANİZMA	HASTALIK	REZERVUAR	BULAŞMA ŞEKLİ	KLİNİK ÖZELLİKLERİ
E. histolytica	Amebiyaz	Enfekte insanlar	Kontamine sular, fekal-oral, kontamine gıdalar	Dizanteri (kanlı ishal), ishal, intestinal ve/veya karaciğer apseleri
G. lamblia	Giardiyaz	Enfekte insan ve diğer memeliler	Kontamine sular, fekal-oral	Akut ve persistan ishal, şişkinlik, gaz, steatore ve malabsorbsiyon
***Cryptosporidium* spp.**	Kriptosporidiyaz	Enfekte insan ve çeşitli hayvan konakçıları (zoonoz)	Kontamine sular, yüzme havuzları, fekal-oral	Kendi kendini sınırlayan ishal, immünsüprese hastalarda kronik ishal (ör. AIDS)

54 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.5.1.3.1. *Entamoeba histolytica*

E. histolytica, insanlarda hastalık oluşturan, patojenik, invaziv bir bağırsak protozoonudur (Eukaryota, Amoebozoa, Archamoeba) ve daha az oranda, primat, kedi, köpek ve bazı kemiriciler gibi hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır (55). Bu parazit yılda yaklaşık beş yüz milyon insana bulaşmakta, yılda yüz bin civarı insanı öldürmekte ve bu

durum, bu organizmayı dünyadaki parazitlerden kaynaklanan morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biri haline getirmektedir (56).

E. histolytica tarafından meydana gelen invaziv amebiyazda; trofozoit, kolonun koruyucu mukus bariyerine nüfuz ettikten sonra, galaktoz-*N*-asetil-[D]-galaktozamin ile inhibe edilebilir yüzey lektinleri aracılığıyla kolonik müsinlere ve epitel hücrelerine bağlanmaktadır. Bu lektinler ayrıca, sitoliz için gerekli hücresel sinyalizasyona, membranda kompleman faktörlerinin birikiminin engellenmesine ve mikroorganizmanın bağırsak proteoglikanlarına bağlanmasına yardımcı olmaktadır. Patojenin hücreye yapışmasından sonra, ameboforlar olarak adlandırılan, kanal oluşturan peptidler oluşturulur ve bu durum sitolize neden olur. Böylece hedef hücrenin şişmesi ve lizisi meydana gelir. Parazit ise zarar görmeden kalmaktadır. Daha sonra, altı farklı gen (*EhCP1* - *EhCP6*) tarafından kodlanan, trofozoitler tarafından salgılanan sistein proteinazlar, insan kolon mukusu ve matriks proteinlerinde yıkım oluşturarak doku istilasını artırırlar. Kolonik epitelin daha fazla hasara uğraması ise, nötrofillerin ortamda birikmesi ve immün aracılı doku hasarı şeklinde kendini gösteren, patojene karşı meydana gelen konakçı bağışıklık yanıtından kaynaklanmaktadır (57, 58).

2.1.5.1.3.2. *Giardia lamblia*

Bağırsakların protozoon türünde paraziti olan *G. lamblia*, dünya çapında dağılım göstermekte ve yılda yaklaşık 280 milyon ishalli hastalığa (giardiyaz) neden olmaktadır (59). Bu parazit en sık kontamine sular aracılığıyla yayılmakta ve gelişmekte olan birçok ülke bu parazit açısından endemik bölge olarak kabul edilmektedir ve giardiyaz, 2004 yılından bu yana, DSÖ'nün ihmal edilen hastalıklar ile ilgili başlattığı programa dahil bir hastalıktır (28). Bu enfeksiyona ait semptomlar değişkendir, ancak tipik olarak sulu ishal, mide bulantısı, epigastrik ağrı ve kilo kaybı görülmektedir (59). Bu parazit noninvazivdir ve hastalık oluşturucu mekanizmaları ile ilgili görece olarak sınırlı bilgiler bulunmaktadır (28). *G. lamblia* trofozoitleri, üst ince bağırsak epiteline yapışmakta ve invazyon yapmadan mukozal fırça sınırına zarar vermektedirler. Patolojik değişiklikler, diyarenin şiddeti ile korelasyon göstermekte, normal görünen duodenal mukozadan, şiddetli villöz atrofiye varabilen şekillerde olabilmekte ve Çölyak Hastalığı'nda görülen mononükleer hücre infiltrasyonuna benzer bulgular oluşabilmektedir (51).

2.1.5.1.3.3. *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium dünya çapında, çok geniş yelpazedeki hayvan türlerine ve insanlara da bulaşan, tıbbi açıdan ve veterinerlik açısından oldukça önemli, enterik protozoon türünde bir parazittir. Dört Afrika ve üç Asya çalışma bölgesinde yaşayan 22.000'den fazla çocukta (5 yaşın altında) diyare nedenlerinin ve etkilerinin araştırıldığı yeni bir epidemiyolojik çalışmada, şiddetli ishale neden olan ikinci en yaygın hastalığın kriptosporidiyoz olduğu, aynı zamanda bu etkenin küçük çocuklarda (12-23 aylık) ciddi sayıda ölümlere yol açtığı da tespit edilmiştir. Dünya genelinde, kriptosporidiyozun 5 yaşın altındaki çocuklarda ölümlerin % 30-50'sinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir ve rotavirüs sonrası çocuklarda ishalin ikinci en büyük nedeni ve ölüm kaynağı olduğu düşünülmektedir. Bu yaş grubunda bu tarz enfeksiyonların görülmesinin, gelişimsel sorunlarla da ilişkili olduğu tespit edilmiştir (60).

C. parvum, bolca ve uzun süreli olabilen, sulu ishallere neden olmaktadır. Diğer yaygın görülen semptomlar, karın ağrısı, bulantı, kusma ve düşük dereceli ateştir. Bazen, miyalji, kırgınlık, halsizlik, baş ağrısı ve anoreksi gibi spesifik olmayan semptomlar da ortaya çıkabilmektedir. Bağışıklık sistemi düzgün çalışan insanlar, kendiliğinden sınırlanan, 2-3 haftaya kadar varabilen geçici bir hastalık yaşamaktadırlar. Bununla birlikte, insan immün yetmezlik virüslü (HIV) hastalar gibi bağışıklığı baskılanmış kişilerde kronik veya uzun süreli ishal görülebilmektedir ve antiretroviral tedavilerden önce *C. parvum*, bu hastalarda önemli sayıda ölüme neden olmuştur. HIV ile enfekte olmuş kişilerde bu parazit; safra kesesi, safra yolu, pankreas ve pulmoner sistem gibi diğer bölgelere de yayılmak suretiyle ekstraintestinal tutulum da gösterebilmektedir (60).

Parazitin bulaşması, kontamine su veya yiyeceklerin yutulması yoluyla fekal-oral yolla veya kişiden kişiye veya hayvandan insana şeklinde gerçekleşmektedir (61). Sular yoluyla bulaşmanın, hastalık geçişindeki en önemli yol olduğu düşünülmektedir ve *C. parvum*'un, 2004 ve 2010 yılları arasında dünya genelinde bildirilen su kaynaklı protozoon parazit salgınlarının % 60,3'ünde etyolojik ajan olarak rol oynadığı gösterilmiştir (62).

2.1.5.1.3.4. Diğer Parazitler

Dünya genelinde en yaygın parazit kaynaklı gastroenterit nedenleri olan *E. histolytica*, *G. lamblia* ve *C. parvum* dışındaki parazitlerle de gastroenterit oluşmakta,

ancak bu parazitlerle oluşan hastalıklar daha nadir görülmektedir. Bunlar arasında protozoalar sınıfından *Microsporida, Isospora belli, C. cayetanensis, Dientamoeba fragilis* ve *Blastocystis hominis* sayılabilmektedir. Helmintlerden ise gastroenterite yol açabilen etkenler arasında *Strongyloides stercoralis, Angiostrongylus costaricensis, Schistosoma mansoni* ve *Schistosoma japonicum* gösterilebilmektedir (16).

2.1.5.1.4. Antibiyotiğe Bağlı İshaller

Antibiyotik ile ilişkili ishaller, *C. difficile* koliti olarak da adlandırılmaktadır. Bu enfeksiyon, sıklıkla hastanede yatan hastalarda görülmektedir ve artan risk hastanede kalış süresiyle doğru orantılıdır. Çok sayıda antibiyotik kullanımı ve antibiyotik kullanım süresi de *C. difficile* enfeksiyonu riski ile ilişkili bulunmuştur. Bulaşma, fekal-oral yolla gerçekleşmekte ve kolonizasyon oluşmaktadır; çünkü antibiyotik kullanımı bağırsak yolunun normal florasını bozmaktadır. *C. difficile* enfeksiyonuyla en sık ilişkili olan antibiyotiklerin florokinolonlar, klindamisin, sefalosporinler ve penisilinler olduğu, bu enfeksiyonla en az ilişkili olan antibiyotiklerin ise doksisiklin, aminoglikozidler, vankomisin ve metronidazol olduğu tespit edilmiştir. Proton pompa inhibitörleri kullanımının da, *C. difficile* enfeksiyonuna duyarlılığın artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, proton pompa inhibitörleri kullananlarda, kullanmayanlara kıyasla *C. difficile* enfeksiyonu görülme oranının 1,4 - 2,75 kat arttığı bulunmuştur (11).

C. difficile, eksotoksin üretebilen, sporlar oluşturan, anaerobik bir bakteridir. Sporları, ısıya dayanıklı, asite ve antibiyotiklere dirençlidir. Bu sporlar ayrıca, alkol bazlı el temizleyicilerine karşı da dirençlidirler. Bu nedenle hastanede çalışanların ellerini sabun ve su ile yıkamaları gerekmektedir. Bakteri kolonda işlevsel hale gelmekte ve toksin A (enterotoksin) ile toksin B (sitotoksin) üretmektedir. Her iki toksin de inflamasyona, mukozal hasara ve sekretuvar ishale yol açmaktadır. Toksin B'nin virulansının, toksin A'ya kıyasla daha fazla olmasına rağmen, her ikisi de düzenleyici yolları inaktive etmekte ve bu enfeksiyonda yaygın görülen psödomembranları üretmek için hücre apopitozuna, mukozal ülserasyona ve nötrofil kemotaksisine neden olmaktadırlar. Psödomembranlar, nötrofiller, fibrin, epitel artıkları ve müsinden oluşmaktadır. Psödomembranlar, ülseratif koliti olan veya steroidler veya siklosporin gibi immünsüpresif ajanlar kullanan hastalarda

bulunmamaktadır. Bu durum için öngörülen sebep ise psödomembranların, konakçı bağışıklık sistemi reaksiyonları nedeniyle gelişmesidir (11).

2.1.5.2. Kronik Gastroenterit Etyolojisi

Persistan veya kronik gastroenteritin nedenleri arasında, parazitik enfeksiyonlar, inflamatuar bağırsak hastalıkları (ülseratif kolit, Crohn hastalığı, kollajenöz kolit ve mikroskopik kolit), irritabl bağırsak sendromu, eozinofilik gastroenterit, Çölyak Hastalığı, laktoz intoleransı, kolorektal kanser, bağırsak tıkanıklığı, malabsorpsiyon ve iskemik bağırsak hastalığı gösterilebilmektedir (11, 12).

Tüm dünyada, intestinal parazitik hastalıklar ve protozoal enfeksiyonlar, kronik ve tekrarlayıcı gastroenteritin başlıca nedenleri arasında gösterilmektedirler. Bu hastalıklar, dünya nüfusunun yarısından fazlasını etkilemekte ve az gelişmiş ülkelerde endemik olarak bulunmaktadırlar (12).

Bağışıklığı baskılanmış hastalar, kronik gastroenterit enfeksiyonlarına karşı daha savunmasızdırlar. Örneğin; *Cryptosporidiu*m, edinilmiş immün yetmezlik sendromlu (AIDS'li) hastalarda kronik ishale neden olmaktadır. Ayrıca, bu parazitin gündüz bakım merkezlerinde ve yüzme havuzlarında meydana gelen büyük salgınlardan da sorumlu olduğu ve kamusal su kaynaklarını kirlettiği gösterilmiştir. Bu salgınların sebepleri arasında, bu parazite ait oositlerin çamaşır suyuna veya diğer dezenfektanlara karşı dirençli olması, böylece kirli yüzeylerle temas veya kişiden kişiye temas yoluyla kolayca iletilebilir olması gösterilmektedir. *Giardia*, kronik gastroenteritin diğer bir yaygın nedenidir. Kontamine olmuş sularda bulunmaktadır, ancak aynı zamanda gündüz bakım merkezlerinde ve yüzme havuzlarında da yaygın görülmektedir. *Giardia* şişkinliğe, gaza ve patlayıcı, soluk, kötü kokulu ishale neden olmaktadır (11).

2.1.6. Laboratuvar Tanısı

Virüsler, bakteriler, parazitler ve mantarlar gibi patojenler, gastroenterite neden olmaktadır. Etken sayısının bu kadar çok olması ve yüksek maliyetleri düşürme ihtiyacından dolayı, hangi tanı testinin kullanılacağına karar vermek önemlidir. Klinisyenin hastalığın klinik gidişi ile ilgili açıklayıcı bilgiler vermesi, o kliniğe sebep olabilecek etkene yönelim için önem arzetmektedir (63). Ülkemizde akut gastroenterit bildirimi

zorunlu hastalıklar içerisinde yer almakta ve vaka tanımına uyanların bildirimi istenmektedir. Yani hekimin laboratuvar desteği alıp kesin tanı koyma zorunluluğu yoktur. Ancak, iyi hasta yönetimi için etkenin araştırılması ve hastanın laboratuvara yönlendirilmesi gerekmektedir (64). Laboratuvara gönderilecek örnek olarak, öncelikle dışkı tercih edilir. Rektal sürüntü, dışkı veremeyen hastalarda ve bebeklerde tercih edilir. Rektal sürüntü örneği parazit incelemesi (mikroskobisi) için uygun bir örnek değildir. Endoskopik, sigmoidoskopik örnekler de bazı bakteriyel ve paraziter enfeksiyonların tanısında kullanılabilmektedir (65). Doğru tanı için laboratuvara gelen örneklerin uygun koşullarda alınmış ve taşınmış olması gerekmektedir. Eğer bu koşullar düzgün bir şekilde yerine getirilmemişse, gelen örnekler reddedilir. Bunlar;

- 2 saati geçtiği halde taşıma besiyerine konulmadan gönderilmiş örnekler
- Taşıma besiyerinde 4 santigrad derecede (°C) 48 saat veya 25°C'de 24 saatten uzun bekleyen örnekler
- Hastadan aynı gün içinde kültür için birden fazla, üç hafta içinde üçten fazla gönderilen örnek
- İmmün yetmezlikli kişiler veya salgın durumları haricinde, 3 günden uzun süredir hastanede yatan hastalardan gönderilen örnekler
- Ekimi yapılamayan çok katı dışkı örnekleri
- Antibiyotik kullanmış hasta örnekleri
- Tuvalet kağıdı ile alınmış, idrar ve baryum ile karışmış örnekler
- Protokol/isim numarası ve hasta bilgileri birbirini tutmayan örnekler, örneği içeren kap/tüp üzerinde hasta bilgileri yazmayan örneklerdir (63, 65).

2.1.6.1. Makroskobik İnceleme

Normal dışkı; şekilli, kahverengi, kendine has kokulu, çevresi belli belirsiz biçimde mukusla kaplıdır. Sindirim sisteminin ilişkili olduğu çeşitli patolojik durumlarda, dışkının görünümünde değişiklikler meydana gelmektedir (66). Dışkının miktarı ve kıvamı, kanlı, mukuslu veya pürülan olup olmaması, etken ile ilgili bilgi verebilmektedir (26).

Kötü kokulu, suda yüzen, lapa biçimindeki dışkı, yağ sindirimi bozukluğunda olmaktadır. Camcı macunu veya kil rengindeki dışkıda safra tıkanıklığı akla gelmelidir. Kırmızı renkli dışkı, bağırsağın aşağı bölgelerindeki bir kanamayı düşündürmektedir.

Ancak, bazen yenen gıdalardan kaynaklanan bir renk değişikliği de olabilmektedir. Kanama üst bölgelerde olmuşsa, dışkı katran gibi siyah renkte olmaktadır. Belli bir süre dışarıda bekleyen dışkının havayla temas eden yüzü de koyu renge dönmektedir. Dışkının üzerinde yaygın jelatinöz mukus varlığı, müköz kolit ya da spastik kabızlığı akla getirmelidir. Kanlı ve mukuslu dışkı; ülseratif kolit, basilli dizanteri, ülserli karsinom, nadiren bağırsak tüberkülozu ya da akut divertiküliti düşündürmektedir. Villöz adenomlu hastalar çok miktarda mukus çıkarmaktadırlar. *V. cholerae, B. cereus, C. perfringens, E. coli,* ETEC, *Vibrio parahaemolyticus* gibi bakterilerde dışkı, sulu ve pirinç suyu renginde olabilmektedir (66).

2.1.6.2. Mikroskobik İnceleme

Dışkı mikroskobisi erken tanı için önemlidir. Örnek hiç bekletilmeden hemen incelemeye alınmalıdır. Mikroskobik inceleme yapılacak örnekler saklanamaz, buzdolabına konmaz, dondurulmaz (65). Öze ile dışkının değişik bölgelerinden, eğer mukus varsa mukuslu bölgelerden olacak şekilde alınarak örnek serum fizyolojik damlatılmış lam üzerine konur. Üzerine lamel kapatılarak 40x objektifle ışık mikroskobunda incelenir. Böylece eritrosit, lökosit, parazit yumurtaları, hareketli flajelli ve kirpikli protozoa ve kistleri, mantar elemanları (*Candida* yalancı hifi) görülebilir. Dışkıda lökosit olması bağırsak duvarına invazyon yapan EIEC, *Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacter* türlerini düşündürmektedir (26). Lökosit görülmemesi *V. cholerae,* ETEC, viral ve paraziter ishalleri düşündürmektedir. *Salmonella* taşıyıcısı olanlarda da lökosit görülmemektedir. Farklı boyalar kullanılarak da inceleme yapılabilmektedir. Örnek üzerine bir damla lugol damlatılarak parazit yumurtaları ve protozoa kistleri incelenir. Örnek üzerine metilen mavisi damlatılıp 2-3 dakika bekletildikten sonra incelenirse lökositler daha iyi değerlendirilir. Dışkı, Giemsa ile boyanırsa protozoa trofozoitleri ve lökositler görünür. Aside dirençli boyama *Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora* tanısı için faydalıdır. Gram boyamada spiral, martı kanadı, yay veya virgül şeklinde küçük Gram negatif basiller *Campylobacter* tanısı için önemlidir. Karanlık alan mikroskobunda dışkının boyasız preparatında çok hızlı hareket eden vibrioların görülmesi kolerayı düşündürmektedir. EM'de rotavirüsler, araba tekeri şeklinde gözlenebilmektedir (26).

2.1.6.3. Kültür Yöntemi

Bağırsağın zengin mikroorganizma florası içinden patojen bakterilerin tanımlanabilmesi için birçok seçici ve ayırt edici besiyeri üretilmiştir. Hangi patojenin araştırılması gerektiğine karar verilirken çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmaktadır. Çalışılan bölgede çoğunlukla etken olan patojenler ve hastanın klinik seyri, bizi izole etmemiz gereken etkene doğru yönlendirmektedir. Böylece hem malzeme, hem de zaman kaybı engellenmiş olmaktadır (63, 66). Mikrobiyoloji laboratuvarlarında dışkı kültüründe, rutin olarak *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp.'in çalışılması gerekmektedir (63). *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin tanımlanmasında ayırt edici ve seçici besiyeri kullanılmaktadır (67). Ayırt edici besiyeri olarak MacConkey agar (MAC), Eozin methilene Blue (EMB) agar, Endo agar, Deoxycholate agar besiyerlerinden biri kullanılmaktadır. Bu besiyerlerine az miktarda örnek ile ekim yeterli olmaktadır. Bu besiyerleri, laktoz pozitif ve negatif kolonileri ayırt etmemizi sağlamaktadır. Daha seçici özellikte olan, içindeki inhibitör maddelerin yoğunluğundan dolayı daha yoğun ekim gerektiren Hektoen enterik agar (HEK), xylose-lysine desoxy-cholate agar (XLD), Salmonella-Shigella agar (SS) veya CHROMagar Salmonella (*Salmonella* spp. için seçici) besiyerlerinden biri de yine kültür için kullanılmaktadır (66). Zenginleştirme sıvı besiyerleri, gıda sektörü veya bakımevi gibi yerlerde çalışanların dışkı kültürlerindeki düşük sayılı *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin saptanması için kullanılabilmektedir. Bu amaçla, Selenit-F ve Gram Negatif (GN) zenginleştirme besiyerinden biri kullanılmaktadır. Selenit-F için inkübasyon süresi 18-24 saat, GN zenginleştirme besiyeri için 6-8 saattir. Dışkı bu inkübasyon süreleri sonunda seçici besiyerlerinden birine ekilerek, 24 saat daha etüvde inkübasyona bırakılmaktadır. Zenginleştirme sıvı besiyeri, izolasyon oranını % 10 arttırmaktadır. *Campylobacter* spp. için birden fazla seçici besiyerinin kullanımı, izolasyon oranını % 15 arttırmaktadır (63). Bu amaçla; kansız-kömürlü besiyeri, kansız-kömürlü-sefoperazon-dezoksikolat agar (CCDA), Campy-CVA (sefoperazon, vankomisin, amfoterisin B) agar, % 5 koyun kanlı Brucella agar ve sefoperazon, vankomisin, amfoterisin B içeren besiyerleri kullanılabilmektedir. 42°C'de, 48 saat mikroaerofilik ortamda inkübe edilmektedir (63). *Yersinia enterocolitica (Y. enterocolitica), Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides (P. shigelloides)* ve *Vibrio* spp. klasik besiyerlerinde saptanabilmektedir. Ancak, klinisyen bu etkenlerden birinin özel olarak çalışılmasını isterse, etkenlerin saptanma olasılığı yükselmektedir. Özgül seçici besiyerlerinden birinin

kullanımı, bu etkenlerin izolasyonlarını kolaylaştırmaktadır (63, 67). *Y. enterocolitica* için sefsulodin-irgasan-novobiyosin (CIN) agar, *P. shigelloides* için inositol-brillant yeşili-safra tuzlu (IBB) agar, *Aeromonas* spp. için ampisilinli koyun kanlı agar (KKA-A), *Vibrio* spp. için tiyosülfat sitrat safra tuzları (TCBS) kullanılmaktadır. *C. difficile*, toksin aracılığıyla hastalığa neden olmaktadır. Kültürde saptanabilmektedir, ancak; toksinin saptanabilmesi için başka laboratuvar testlerinin yapılması gerekmektedir. Kültür için örnek, seçici bir besiyeri olan sikloserin-sefoksitin-yumurta sarısı (CCEY) agara ekilmekte ve anaerobik olarak 48 saat inkübe edilmektedir (63). EHEC, toksin aracılığıyla hastalığa neden olduğundan bu bakteri için toksin saptama testleri kullanılmaktadır. Ancak, bu bakterinin kültürü de yapılabilmektedir (63). *E. coli* serotiplerinin altmıştan fazlası toksin üretmekte ve vakaların en az yarısını O157:H7 serotipi oluşturmaktadır. *E. coli* O157 için seçici besiyerleri mevcuttur. Bu amaçla, CHROMagar O157 ve sorbitollü MAC kullanılmaktadır. Halk sağlığı yönünden bakıldığında, gastroenteritli tüm dışkıların çalışılması gerekmektedir. Ama o bölgede etkenin saptanma oranı yüksek değilse, laboratuvar için maliyet etkin olmayacağından en azından kanlı dışkılarda *E. coli* O157 çalışılabilir (63). Kültür sonucunda bir bakteriyel patojenin üremesi kesin tanı bulgusudur. Kültürlerde üreme olmaması hastalığı ekarte ettirmemektedir.

2.1.6.4. Biyokimyasal Testler

2.1.6.4.1. Oksidaz Testi

Hücre içi sitokrom oksidaz aktivitesi olan bir bakterinin, fenilendiamin reaktifini oksijen varlığında (bir elektron alıcısı) indofenole oksitlemesine dayanan bir testtir (63). Sitokrom sistemi, son hidrojen alıcısı olarak oksijeni kullanan aerob bakterilerde bulunmaktadır (68). Test, Gram negatif bakterilerin ilk tanımlanma basamağında yararlı olmaktadır. Bütün *Enterobacteriaceae* üyeleri oksidaz negatiftir. *Aeromonas, Pseudomonas, Neisseria, Moraxella, Campylobacter, Pasteurella* ve *Vibrio* kökenleri ise oksidaz pozitiftir (63, 69).

Bu test, % 1'lik Kovacs ayıracı (N, N, N', N'-tetra-metil-p-fenilen diamin dihidroklorid) ile yapılmaktadır. Piyasada hazır ürünler mevcuttur veya laboratuvarda hazırlanabilmektedir. Hazırlanan solüsyonun, hızla kendiliğinden okside olabileceği için günlük hazırlanması ya da -20°C'de folyo ile sarılmış tüplere porsiyonlanması

gerekmektedir (63). Bu testin uygulanmasında iki yöntem kullanılabilmektedir. İlk yöntemde filtre kağıdı üzerine, hazırlanan Kovacs ayıracından konulur. Daha sonra glukoz, inhibitör veya boya içermeyen besiyerinden taze koloni alınır ve kağıdın üzerine sürülür. Mor renk oluşumu gözlenir. Diğer bir yöntem ise plak yöntemidir. Birkaç damla reaktif direkt koloni üzerine damlatılır ve koloninin oksijenle temasını sağlamak için besiyeri bir miktar eğilir. Kolonide mor renk oluşumu izlenir. 10-30 sn içinde mavi-mor bir renk oluşması pozitif sonuç, 30-60 sn içinde renk değişimi olursa zayıf pozitif sonuç, renk oluşmaması veya 60 saniyeden sonra renk değişiminin olması negatif sonuç olarak yorumlanır (63).

2.1.6.4.2. Hippurat Hidrolizi

Bazı bakterilerin hippurikaz enzimi bulunmaktadır. Bu enzim sodyum hippuratı benzoik asit ve glisine yıkmaktadır. Ninhidrin eklenmesiyle glisin deamine olarak indirgenmekte ve ortam rengi mavi-mora dönmektedir. *Listeria monocytogenes (L. monocytogenes), C. jejuni, Gardnerella vaginalis, Streptococcus agalactiae* ve diğer bazı bakteriler % 1'lik sodyum hippurat ile inkübe edildiklerinde hippuratı hidrolize etmektedirler (63). Ticari hippurat reaktifleri olduğu gibi laboratuvarda da % 1'lik solüsyonu hazırlanabilmektedir. 1 gram (gr) sodyum hippurat 100 mL distile su ile karıştırılıp eritilir. Test tüplerine dağıtılır, -20°C'ye kaldırılır. Taze kültürden yoğun bir süspansiyon tüp içinde hazırlanır. 37°C'de 2 saat inkübe edilir. Ninhidrin piyasadan liyofilize halde temin edilebilmektedir. Laboratuvarda hazırlamak için; bir kahverengi cam şişeye 50 mL aseton ve 50 mL butanol konulur. Üzerine 3,5 gr ninhidrin ilave edilip karıştırılır. Daha sonra bu ninhidrin solüsyonundan 2 damla, hippurat ve bakteri süspansiyonunun bulunduğu tüpe damlatılır. 30 dakika (dk) daha 37°C'de inkübe edilir. Mavi renk değişimi gözlenir (63).

2.1.6.4.3. Kligler's Iron Agar (KIA) ve Triple Sugar Iron (TSI) Agar Testleri:

Bu besiyerleri kültürden izole edilen Gram negatif bakterilerin ilk tanımlanmasında kullanılmaktadırlar. Bakterilerin şekerleri kullanma, hidrojen sülfür (H_2S) ve gaz oluşturma yetenekleri değerlendirilmektedir. TSI içerisinde; bir birim glukoz, on birim laktoz ve on birim sukroz olmak üzere üç şeker bulunmaktadır. KIA ise bir birim glukoz ve on birim laktoz içeren iki şekerli bir besiyeridir. Bunların haricinde iki besiyerinin içeriği

aynıdır. İçinde kazein, et peptonları, sodyum tiyosülfat, ferrik amonyum sülfat, fenol kırmızısı bulunmaktadır. Bakteri glukoz fermantasyonu yapıyorsa dip, sarı (asit); yüzey, kırmızı (alkali) olarak görünmektedir. Bakteri laktoz, sükroz veya her ikisini birden kullanıyorsa dipte ve yüzeyde sarı renk oluşmaktadır. Bu fermantasyon sırasında bakteri gaz oluşturursa, besiyerinin dip kısmında kabarcıklar, yer değişikliği ve çatlamalar gözlenmektedir (63, 66). Besiyerindeki sodyum tiyosülfat sülfür kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bakteri kükürtlü bileşikleri parçalayıp H_2S oluşturursa, ferröz sülfat ferröz sülfite dönüşmekte ve siyah renk oluşmaktadır (70).

2.1.6.4.4. Lysine Iron Agar (LIA):

Bu besiyerinde lizinin dekarboksilasyonu ile deaminasyonu ve H_2S oluşumu gözlenmektedir. İçinde pepton, et özütü, glukoz, lizin, sodyum tiyosülfat, ferrik amonyum sitrat, bromkrezol moru, krezol kırmızısı bulunmaktadır. Dekarboksilasyon, besiyerinin dip kısmında olmaktadır. Başlangıçta, glukoz fermantasyonuna bağlı olarak dip kısımda sarı renk oluşmaktadır. Ancak, lizinin dekarboksilasyonundan sonra oluşan alkali ürünler, besiyerini tekrar mor renge dönüştürmektedir. H_2S oluşursa, siyah renk meydana gelmektedir. Deaminasyon besiyerinin yüzeyinde olmakta ve kırmızı renk oluşmaktadır (63, 66). Bir bakteri dekarboksilasyon veya deaminasyon olaylarından sadece birini yapabilmektedir (66).

2.1.6.4.5. Üreaz Testi:

Besiyeri içinde üre, glukoz, pepton, fenol kırmızısı bulunmaktadır. Üreaz enzimi olan bakteriler bu besiyerindeki üreyi parçalayıp amonyak ve karbondioksit oluşturmaktadırlar. Oluşan bu ürünler birleşip, amonyum karbonat oluşturarak alkali ortam meydana getirmektedirler. pH indikatörü olan fenol kırmızısı aracılığıyla pembe renk oluşmaktadır (71).

2.1.6.5. Serotiplendirme

Gram negatif basillerin hücre duvarındaki somatik O antijenlerine karşı geliştirilmiş antikorlarla oluşan aglütinasyonla bakteri gruplandırılması yapılmaktadır. Bu antijenler, hücre duvarının dış membranındaki polisakkarit zincirlerdir. *Salmonella* polivalan A, B, C1, C2, D, E, vb. ve Vi; *Shigella* grupları A, B, C, D; *E. coli* O157; *V. cholerae* O1

antiserumları ve serum fizyolojik içinde hazırlanan bakteri süspansiyonundan birer damla lam üzerine damlatılıp bir dakika kadar çevrilir ve aglütinasyon oluşumu gözlenir. Vi antijenine sahip bazı serotipler polivalan O antiserumu ile aglütine olmayabilir. Böyle bir durumda önce Vi antijeninin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bunun için bakteri süspansiyonu 5 dk kaynatılır, sonra tekrar O antiserumu kullanılır ya da kaynatma işlemi yapılmadan Vi antiserumu kullanılabilir (63). O antiserumları ile gruplandırma yapılırken monovalan antiserumlarla spesifik serotip identifikasyonu yapılmaktadır (72). Serotipler diğer türler ile çapraz reaksiyon oluşturabildiği için, serolojik tanımlama biyokimyasal testler ile birlikte yapılmaktadır (63).

2.1.6.6. Moleküler Yöntemler

Son yirmi beş yılda, örnek işleme ve ekstraksiyon teknikleri ile birlikte genomik ve proteomik tekniklerdeki son gelişmeler, klinik laboratuvarlar tarafından gastrointestinal patojenlerin tanısında moleküler testlerin kullanımının yaygınlaşmasına olanak sağlamıştır. Bu moleküler yöntemlerden, nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) arasında oldukça önemli bir yere sahip olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli yöntemler, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının tanısında oldukça yaygın kullanılmaktadır. Ayrıca, hem genomik, hem de proteomik prensipler temelinde işlev görebilen kütle spektrometri yöntemleri de gastrointestinal sistem patojenlerinin tanısında sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Bu moleküler yöntemleri genel olarak; genomik, proteomik ve kütle spektrometri temelli yöntemler olarak sınıflandırmak mümkündür (73-75).

2.1.6.6.1. Genomik Yöntemler

Bu yöntemler, genel olarak DNA veya RNA'nın amplifikasyonu temelinde işlev görmektedirler. Günümüzde, birçok bakteriyel, mikobakteriyel, viral ve paraziter enfeksiyonun tanısı için geliştirilmiş FDA (ABD Gıda ve İlaç İdaresi) onaylı çok sayıda NAAT bulunmaktadır. Bu moleküler testlerin, geleneksel tanı yöntemlerine kıyasla oldukça yüksek oranda tanısal duyarlılığa sahip oldukları gösterilmiştir. Herhangi bir genomik bazlı test için ilk kritik adım, numunedeki nükleik asidin ekstraksiyonudur. Dışkı, yapısında oldukça fazla sayıda nükleik asit bulunduran kompleks bir karışımdır. Dışkı örneklerinden ekstrakte edilen nükleik asitleri amplifiye etmek için en yaygın kullanılan yöntem PZR'dir. Günümüzde, bilinen enteropatojenlerin çoğu için PZR'de çoğaltılacak

moleküler hedefler tespit edilmiş durumdadır. Genomik yöntemler, genel olarak monopleks ve multipleks moleküler yöntemler olarak ikiye ayrılmaktadır (76).

2.1.6.6.1.1. Monopleks Yöntemler

Keşfedilmesinden bu yana PZR, klinik mikrobiyolojide kullanılan moleküler tanı yöntemleri arasında, temel köşe taşlarından biri haline gelmiştir. PZR, çok büyük miktarlarda hedeflenmiş bir nükleik asit sekansının çoğaltılmasına izin veren basit, in vitro bir kimyasal reaksiyondur. Bu reaksiyon, uygun koşullar altında DNA zincirlerini kopyalayabilen bir DNA polimerazın etkisi ile gerçekleştirilmektedir. En basit haliyle PZR; hedef DNA, çok sayıda iki tip oligonükleotid primer, ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz, sayıları eşit ve her birinden çok sayıda bulunan deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP'ler; dATP, dCTP, dGTP ve dTTP) karışımı, magnezyum klorür ($MgCl_2$), potasyum klorür (KCl) ve Tris-HCl (hidroklorik asit) tamponunun bir araya gelmesiyle gerçekleşen bir reaksiyondur (77, 78).

PZR'yi başlatmak için; reaksiyon karışımı, hedef DNA'nın iki kolunu ayırmak üzere ısıtılmakta ve ardından primerlerin, hedef DNA'ya sekans-spesifik bir şekilde bağlanabilmesi için soğutulmaktadır. Daha sonra DNA polimeraz enzimi, primerlerin 3' uçlarından başlayarak, zincirlerin uzamasını sağlamaktadır. Sonra, oluşan zincirler ısıtılarak hedef DNA'dan ayrıştırılmaktadır. Orijinal hedef gibi, oluşan her uzatma ürünü de, primerlerin bağlanması ve uzama döngüleri için bir kalıp görevi görmektedir (79).

Her döngünün sonunda, PZR ürünleri teorik olarak ikiye katlanmaktadır. Böylece n sayıda PZR döngüsü sonrasında hedef sekans, 2^n kadar çoğaltılmış olmaktadır. Bütün bu prosedür; aşamaların oluştuğu sıcaklığı, reaksiyon karışımının farklı sıcaklıklarda tutulduğu süreyi ve döngü sayısını tam olarak kontrol eden, programlanabilir bir "thermal cycler" içinde gerçekleşmektedir. İdeal olarak, 20 döngü PZR'undan sonra 10^6 kat amplifikasyon ve 30 döngüden sonra ise 10^9 kat amplifikasyon sağlanmaktadır. Pratikte, reaksiyon koşullarını optimize etmede görülen başarısızlıklar veya DNA polimeraz inhibitörlerinin varlığı gibi nedenlerden dolayı, amplifikasyon tamamen etkili olamayabilmektedir. Bu gibi durumlarda, toplam amplifikasyonu en iyi ifade eden formül $(1 + e)^n$ olmaktadır. Bu formüldeki e, amplifikasyon verimliliğini ($0 \leq e \leq 1$) ve n ise toplam döngü sayısını ifade etmektedir (78).

Monopleks PZR yöntemi ile çalışan cihazlarda, yalnızca bir hedef amplifiye edilmekte ve bunun için tek bir primer seti kullanılmaktadır. Amplifiye edilmiş hedefin saptanması, jel-tabanlı elektroforez veya floresan raportör molekülleri aracılığıyla, çoğunlukla diziye özgü problar kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Bu tür probları kullanan PZR'de floresans; her amplifikasyon döngüsünden sonra ölçülebilir ve görüntülenebilir olduğunda bu yönteme "gerçek zamanlı" (real time) PZR denilmektedir. Monopleks PZR yöntemi, *C. difficile* veya norovirüs gibi ayırt edici klinik özelliklere sahip patojenlerin tanılarında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır ve bu amaçla sadece monopleks ölçüm için kullanılan çok sayıda cihaz geliştirilmiştir (74, 76).

C. difficile'nin saptanması için yapılan ilk gerçek zamanlı PZR çalışması, 2003 yılında Bélanger ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada, *C. difficile*'nin; doğrudan dışkı örneklerinden, hızlı (yaklaşık 1 saat), hassas ve özgül bir biçimde tespit edilmesi sağlanabilmiştir (80). Son yıllarda, toksijenik *C. difficile* tespiti için FDA tarafından onaylanmış çok sayıda ticari sistem (BD GeneOhm Cdiff (onay tarihi Ocak 2009), Hologic Prodesse ProGastro Cd (onay tarihi Nisan 2009), Cepheid Xpert *C. difficile* (onay tarihi Haziran 2009), Xpert *C. difficile*/Epi (onay tarihi Nisan 2011), Meridian Bioscience Illumigene *C. diffic*ile (onay tarihi Temmuz 2010), Great Basin Corporation Portrait Toxigenic *C. difficile* (onay tarihi Şubat 2012), Quest Diagnostics Simplexa *C. difficile* Universal Direct Test (onay tarihi Nisan 2012), Nanosphere Verigene *C. difficile* Test (onay tarihi Aralık 2012) ve Quidel AmpliVue *C. difficile* Test (onay tarihi Aralık 2012) gibi), rutin tanı amacıyla kullanıma sunulmuştur (73). Norovirüs tanısı için de yüksek duyarlılık ve doğruluğa sahip sistemler geliştirilmiş bulunmaktadır (81). *E. histolytica*, *Entamoeba dispar* ve *Entamoeba moshkovskii* gibi patojenlerin de klinik örneklerde saptanması ve diferansiyasyonu amacıyla, konvansiyonel ve gerçek zamanlı PZR da dahil olmak üzere, birçok moleküler tanı testi geliştirilmiştir (82).

2.1.6.6.1.2. Multipleks Yöntemler

Gastroenterite neden olan çok çeşitli potansiyel patojenlerin varlığı nedeniyle, birden fazla genomik hedefi etkin bir şekilde çoğaltma yeteneği bulunan sistemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmeye başlamıştır. Son birkaç yılda, örnek hazırlama ve nükleik asit ekstraksiyonu/pürifikasyonu için geliştirilmiş teknolojiler ile birlikte moleküler teknolojilerdeki ilerlemelerle multipleks gerçek zamanlı PZR bazlı tespit yöntemleri, yavaş

yavaş klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına yerleşmeye başlamıştır. Multipleks PZR yöntemi ile tek bir reaksiyonda birden fazla hedefin amplifikasyonu gerçekleştirilebilmektedir (83) .

Multipleks PZR yöntemi ile tek seferde birden fazla ortak patojen için bir numunenin test edilmesinin avantajları şunlardır (83):

1) Doğru sonuçlar elde etmek için gerekli "turn-around time" (TAT) (işlem zamanı, kan alımından sonuç vermeye kadar olan süre) azalmaktadır.
2) Bulunması muhtemel koenfeksiyonların varlığı tespit edilebilmektedir.
3) Gereksiz enfeksiyon kontrol önlemlerini durdurmak için, multipleks bir yöntemin yüksek negatif prediktif değerinden faydalanılmaktadır.
4) Moleküler testlerin sunduğu yüksek hassasiyet ve özgüllükten faydalanılmaktadır.
5) Sağlık çalışanlarının, hastalara daha iyi hizmet sunmalarına yardımcı olunmaktadır.

Son on yılda, multipleks gerçek zamanlı PZR sistemleri, çok sayıda respiratuvar viral patojenin rutin tanısal algoritmalarının bir parçası haline gelmiştir. Respiratuvar alandaki multipleks moleküler tanı sistemlerinin başarısı nedeniyle, gastrointestinal sistem patojenlerinin tespiti için de bu tür sistemlerin geliştirilebileceği düşünülmüş, gerçekten de, bu alanda son birkaç yılda oldukça fazla ilerleme kaydedilmiş ve çoklu hedef tespiti ve gastroenterit etkenlerinin tanımlanması amacıyla çok sayıda multipleks gerçek zamanlı PZR tabanlı ticari sistem geliştirilmiştir (73, 83).

2016 yılı itibariyle, bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespiti amacıyla FDA onayı almış toplamda beş adet multipleks panel bulunmaktadır ve bu panellerin hepsi *Campylobacter* (genel olarak *C. jejuni* ve *C. coli*), *Salmonella*, *Shigella*/EIEC ve Shiga toksin-üreten *E. coli* (STEC) tespiti yapabilmektedir. Bu paneller; BD Max Enterik Bakteriyel Panel (Becton, Dickinson and Company/GeneOhm Sciences Canada Inc.), FilmArray Gastrointestinal Panel (bioMérieux), Gastrointestinal Pathogens Panel (GPP) (Luminex), Prodesse ProGastro (Hologic) ve Verigene Enteric Panel (EP) (Luminex, eskiden Nanosphere)'dir (84).

2.1.6.6.1.2.1. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel

Cihaz olarak BD MAX^{TM} Sistemi (BD Diagnostics, Baltimore, MD, ABD) kullanılarak gerçekleştirilen BD MAX^{TM} Enterik Bakteriyel Panel (BD MAX EBP) çalışması ile, enterik bakteriyel patojenlerin doğrudan kalitatif tespiti ve ayrıştırılması, otomatik olarak, *in vitro* şartlarda gerçekleştirilmektedir. BD MAX^{TM} Sistemi, tek seferde 24 örneği 3 saatte çalışabilen, tam otomatik bir PZR cihazıdır. BD MAX EBP, aşağıdaki bakterilere ait nükleik asitleri tespit edebilmektedir (85, 86):

- *Salmonella* spp.
- *Campylobacter* spp. *(jejuni ve coli)*
- *Shigella* spp. / EIEC
- Shiga toksin 1 (*stx*1) / Shiga toksin 2 (*stx*2) genleri Shiga toksin üreten *E. coli*'de (STEC) bulunmaktadır ve *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) de, STEC'in *stx*1 genine özdeş Shiga toksin genine (*stx*) sahip olabilmektedir.

Bu paneldeki testler, gastroenterit şüphesi olan semptomatik hastalardan alınmış, yumuşakla sulu arasında değişen kıvamdaki korunmayan dışkı örneklerinden veya Cary-Blair besiyeri ile korunmuş dışkı örneklerinden çalışılmaktadır. Cihaz, testleri doğrudan örnek üzerinden çalışmakta ve genlerin amplifikasyonu için gerçek zamanlı PZR yöntemi kullanmaktadır. *Salmonella* spp. için *SpaO*, *Campylobacter* spp. *(jejuni ve coli)* için *tuf* gen sekansı, *Shigella* spp. / EIEC için *ipaH* ve STEC için ise stx1/stx2 genlerinin amplifikasyonu yapılmakta ve amplifiye edilmiş DNA'ların saptanması için florojenik, sekansa özgü hibridizasyon probları kullanılmaktadır (85).

Bu panel, *Salmonella*, *Shigella*/EIEC, *Campylobacter* ve STEC enfeksiyonlarının ayırıcı tanısında kullanılarak, hastaların klinik ve laboratuvar bulgularına katkı sağlamak, ayrıca epidemiyolojik verilerin elde edilmesine de yardımcı olmak üzere tasarlanmıştır. Bu test panelinin sonuçlarının; tanıda, tedavide veya hastalara yapılacak diğer işlemler ile ilgili kararlarda tek dayanak olarak ele alınmaması gerekmektedir. Pozitif test sonuçları, bu testle saptanmamış diğer organizmaların varlığında gelişebilen koenfeksiyon olasılığını ortadan kaldırmamakta ve hastalığın tek veya ayırıcı nedeni olmayabilmektedir. Gastroenterit ile uyumlu klinik hastalık varlığında elde edilen negatif test sonuçları, bu testle saptanmamış patojenlerin oluşturduğu bir enfeksiyondan veya ülseratif kolit, irritabl

bağırsak sendromu veya Crohn Hastalığı gibi bulaşıcı olmayan nedenlerden kaynaklanabilmektedir (85).

2.1.6.6.1.2.2. Diğer Enterik Paneller

FilmArray GIP (gastro intestinal panel), 13 bakteriyel hedefi tespit etmek amacıyla tasarlanmıştır. *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli* ve *C. upsaliensis*), *Salmonella*, *Shigella*/EIEC ve STEC'e ek olarak, ETEC, EPEC, EAEC, *C. difficile*, *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*), *P. shigelloides*, *V. cholerae* ile diğer *Vibrio* türleri ve *Y. enterocolitica* gibi patojenleri de tespit etmektedir. Luminex GPP ise 9 bakteriyel hedef için analiz yapabilmektedir ve analizin başlangıcında ayrı bir ekstraksiyon işlemi yapılmasını gerektirmektedir. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* ve STEC'e ek olarak, *E. coli* O157, ETEC, *C. difficile*, *V. cholerae* ve *Y. enterocolitica*'yı tespit edebilmektedir. Prodesse ProGastro panel de analizin başlangıcında ayrı bir ekstraksiyon işlemi gerektirmektedir. Daha sonra "Smartcycler real-time thermocycler" ile amplifikasyon yapılmaktadır. Bu panel, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* ve STEC tayini yapabilmektedir. FDA onaylı son panel olan Verigene Enteric Panel ise, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, STEC, *Vibrio* ve *Y. enterocolitica* tayini yapabilmektedir. Bakteriyel hedefleri tespit etmek amacıyla tasarlanmış FDA onaylı multipleks panellerin özellikleri tablo 10'da açıklanmaktadır (84).

Tablo 10. Bakteriyel hedefleri tespit etmek amacıyla tasarlanmış FDA onaylı multipleks panellerin özellikleri

PANEL ADI	HEDEF BAKTERİLER	ÖZELLİKLERİ
BD Max Enteric Panel (Becton, Dickinson and Company/GeneOhm Sciences, Canada Inc.)	*Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Shigella*/EIEC STEC	Cihaz olarak BD Max Sistemi'ni kullanır; korumasız veya Cary-Blair medium ile korumalı dışkılarda çalışır; bütün aşamalar otomatik olarak cihazda gerçekleşir; çalışma süresi 3 saattir.
FilmArray GIP (bioMérieux)	*Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Shigella*/EIEC STEC ETEC EPEC EAEC *C. difficile* *A. hydrophila* *P. shigelloides* *V. cholerae* *Vibrio spp.* *Y. enterocolitica*	Bakteri panelleri dışında virüsler ve protozoonlar için de panelleri mevcuttur; işlemler kullanıcının isteğiyle ayrı ayrı yapılabilmektedir; 2 dk'lık 'set-up' ve 1 saatlik çalışma süresi vardır.
Gastrointestinal Pathogens Panel (GPP) (Luminex)	*Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Shigella*/EIEC STEC *E. coli* O157 ETEC *C. difficile* *V. cholerae* *Y. enterocolitica*	Bakteri panelleri dışında virüsler ve protozoonlar için de panelleri mevcuttur; bütün aşamalar otomatik olarak cihazda gerçekleşir, ancak ekstraksiyonun ayrı olarak yapılması gerekmektedir; çalışma süresi 5 saattir.
Prodesse ProGastro (Hologic)	*Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Shigella* spp. STEC	Cary-Blair medium ile korumalı dışkılarda çalışır; ekstraksiyonun ayrı olarak yapılması gerekmektedir; "Smartcycler" ile amplifikasyon yapılır; çalışma süresi 4 saattir.
Verigene Enteric Panel (EP) (Luminex, eskiden Nanosphere)	*Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. *Shigella* STEC *Vibrio* spp. *Y. enterocolitica*	Viral ve bakteriyel panelleri mevcuttur; işlemler kullanıcının isteğiyle ayrı ayrı yapılabilmektedir; 5 dk'lık 'set-up' ve 2 saatlik çalışma süresi vardır.

84 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.1.6.6.2. Proteomik Yöntemler

Son yıllarda geliştirilen, proteomik yöntem prensibinde çalışan, mikro ve nano düzeyde ölçümler yapabilen biyosensörler ve mikroakışkan çip sistemleri gibi patojen bakterilerin tespiti için kullanılan algılama stratejileri, klinik laboratuvarlarda gastroenterit ajanlarının immünodeteksiyonu için umut vaadetmektedirler. Fenotip testlerini veya karakteristik metabolit testlerini içeren geleneksel bakteri tanımlama yöntemleri zaman alıcı olabilmekte ve radyoimmünoassay ile ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) gibi geleneksel immünoassay yöntemlerinin ise uzun analiz süreleri ve pahalı cihaz ve malzeme gereksinimleri gibi sınırlamaları bulunmaktadır. Biyosensör teknolojileri gibi yöntemlerin geleneksel metodlara göre birtakım avantajları bulunmaktadır (73):

- Yüksek duyarlılık
- Düşük deteksiyon limiti
- Yüksek özgüllük
- Numune hazırlama süresinin azalması
- Hızlı analiz süresi
- Taşınabilirlik
- Kullanım kolaylığı

2.1.6.6.2.1. Biyosensörler

Biyosensörler, çeşitli moleküllerin reseptörlere bağlanmalarını tanıyarak, algılanabilir bir sinyale dönüştürmektedir. İmmünosensörler, hedef hücrelerdeki antijenler ile immobilize edilmiş antikorlar arasındaki etkileşim temelinde işlev görmektedir. Bağlı kompleksler; floresans, elektriksel/elektrokimyasal impedans, kuvars kristal mikrobalans ve manyetik dirençlilik gibi çeşitli işaretli ve işaretsiz tespit sistemleri ile tespit edilebilmektedir (73).

2.1.6.6.2.2. Multipleks Protein/Antijen Belirleme

Gastroenteritler, geniş bir klinik spektruma sahiptir ve belirtilerin şiddeti, konak ile patojen etkileşiminden kaynaklanan intestinal inflamasyonun derecesini yansıtmaktadır. Hastaların protein profilleri, enfeksiyon hastalıklarının durumunu gösterme potansiyeline sahip olabilmekte ve çeşitli kombinasyonlarda kullanılabilen spesifik protein

biyobelirteçlerinden oluşan dizi analizleri, çeşitli enfeksiyonlar için hassas ve spesifik bir minimal invaziv tanı yöntemi olarak kullanılabilmektedir. Kan ve dışkı kaynaklı sitokinler ve antikorlar gibi protein biyobelirteçler, kronik gastroenterite neden olan durumların enfeksiyon kaynaklı olup olmadığı konusunda bilgi verebilmekte ve bu tür hastaların tanı ve tedavisinde yardımcı olabilmektedir. Enfeksiyöz gastroenteritlerin tanısında ve bu hastalıkların gidişatlarının takibi amacıyla, çeşitli sitokinlerin birlikte değerlendirildiği multipleks dizi analizi cihaz sistemleri geliştirilmiştir (73).

2.1.6.6.3. Kütle Spektrometri Temelli Yöntemler

Kütle spektrometri teknolojisi, on yıllar boyunca çeşitli kimyasal analizlerde kullanılmıştır. 1975 yılında Anhalt ve Fenselau, bu yöntemin bakteri karakterizasyonu için kullanılmasını önermişlerdir, çünkü çeşitli bakteriyel ekstrelerle yaptıkları çalışmalarda, farklı cins ve türler için, farklı ve eşsiz kütle spektrumları elde etmişlerdir (87). 1980'lerde, mikroorganizmalardan moleküler biyolojik belirteç iyonlarının üretilmesine izin veren dezorpsiyon/iyonizasyon tekniklerinin (plazma dezorpsiyonu, lazer dezorpsiyonu ve hızlı atom bombardımanı) geliştirilmesi, bakteri tanımlanmasının yolunu açmıştır (88, 89).

Kütle spektrometri temelli yöntemler aracılığıyla patojenlerin tanımlanması, klinik mikrobiyoloji için umut vaat edici bir gelişmedir. Mikrobiyolojide tanımlama amacıyla kullanılan bu yöntemler, genel olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincisi, MALDI-TOF MS'tir. Bu yöntem, doğrudan kolonilerden örnek alınarak hızlı patojen identifikasyonu yapılmasını sağlamaktadır. Bu tür sistemler, bir saatten kısa sürede organizmaların tür seviyesinde tanımlanmasını sağlamaktadır. MALDI-TOF MS ile, özellikle pozitif kan kültürü örneklerinden doğrudan tespit yapılabildiği için, bu yöntem kan kültürü çalışmaları için oldukça cazip görünmektedir. Bütün bu olumlu özelliklerine rağmen, dışkı örneklerinde patojen tespit edilmesi, patojenin başarılı bir biçimde izole edilmesine bağlı olduğundan, bu yöntemin de tanısal gücü sınırlı kalmaktadır (75, 90).

İkinci yöntem ise PZR-elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisidir (PZR-ESİ). Bu yöntem, büyük oranda korunmuş bakteri, virüs veya mantar genom bölgelerinin, çoklu PZR analizleriyle çoğaltılarak, nükleik asit kompozisyonunu tanımlamakta ve elde edilen veriler daha sonra çeşitli organizmalar için hazırlanmış veri tabanları ile karşılaştırılmaktadır. Yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda, solunum numunelerinden

gelen influenza ve fungal patojenlerin tanımlanması ve kalp kapak dokusundan bakteri ve mantar patojenlerinin doğrudan saptanması amacıyla PZR-ESİ kütle spektrometrisi kullanılmıştır (75).

2.1.6.6.3.1. Matriks Aracılı Lazer Dezorbsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı (MALDI-TOF) Kütle Spektrometrisi

Kütle spektrometrisiyle bakterilerin tanımlanması amacıyla yapılan ilk çalışmalar, çoğunlukla biyolojik belirteç olarak düşük molekül ağırlıklı bakteriyel lipidler üzerine odaklanmıştır (91, 92). Bozulmamış proteinler gibi büyük biyomoleküllerin analizi ise, Tanaka ve Fenn tarafından 1980'lerin sonlarında "yumuşak iyonlaşma teknikleri"nin geliştirilmesi (MALDI ve elektrosprey iyonizasyon) sayesinde mümkün olabilmiştir (93, 94). İlk kez 1996 yılında, Holland ve arkadaşları MALDI-TOF ile, kütle spektometri analizinden önce ön işlem yapmadan, yapısı bozulmamış bütün haldeki bakteri hücrelerini kullanarak spektral parmak izleri elde edebilmişlerdir. Günümüzde, MALDI-TOF kütle spektrometrisi; bakterilerin, mantarların ve virüslerin mikrobiyal karakterizasyonu ve tanımlanması için hızlı, doğru ve hassas bir araç olarak kullanılmaktadır (95, 96).

MALDI iyonizasyonu, bozulmamış proteinler gibi büyük, uçucu olmayan biyomoleküllerin iyonlaşmasına ve buharlaşmasına izin veren yumuşak bir iyonizasyon tekniğidir (97). Bu yöntemde, analitin kütle/yük oranı (m/z), kütle değerine karşılık gelecek şekilde, çoğunlukla tek yüklü iyonlar (z = 1) üretilmektedir. Her MALDI-TOF kütle spektrometresi üç temel birimden oluşmaktadır. Birincisi, iyonlaşmayı mümkün kılan ve örnek molekül iyonlarını bir gaz fazına aktaran iyon kaynağıdır. İkinci birim, m/z oranına göre iyonların ayrılmasını sağlayan kütle analizörüdür. Son ünite ise, ayrılmış iyonlarla ilgili verilerin görüntülendiği bir tespit cihazıdır (98).

Örnekler; analitin, lazer cihazı tarafından kullanılan dalga boyu aralığında kuvvetli bir optik absorpsiyona sahip küçük asit moleküllerinden yapılmış bir matrikste karıştırılmasıyla hazırlanır. DHB (2,5-dihidroksibenzoik asit) ve CHCA (α-siyano-4-hidroksisinnamik asit), düşük kütleli iyonların saptanması için en uygun matrikslerdir. Numunenin ve matriksin birlikte kristalleşmesinden sonra; numune ve matriks, lazerden gelen enerjiyi absorbe etmekte, böylece gaz fazında analitlerin dezorpsiyonu ve iyonlaşması gerçekleşmektedir. Daha sonra iyonlar, dedektöre ulaşıncaya kadar yüksek

vakumlu bir uçuş tüpünde, yaklaşık 20 kiloVolt'luk (kV) bir potansiyel tarafından oluşturulan elektrostatik bir alan aracılığıyla hızlandırılmaktadır. Bu ortamda, küçük iyonlar, büyük olanlardan daha hızlı ilerlemektedirler. Bu nedenle, dedektöre ulaşmak için gereken süre (uçuş zamanı=TOF); biyoanalitin kütlesine ve yüküne bağlı olarak, belirli bir tür için genellikle 2 - 20 kiloDalton (kDa) arasında dağılım gösteren piklerden oluşan spesifik bir spektrum profiline neden olmaktadır (98).

MALDI-TOF spektrumu, temel fonksiyonlara sahip, çok iyi korunmuş proteinlerle oluşturulmaktadır. Tüm biyokimyasal özellikleriyle iyonlaşmaya elverişli yapıda bulunan tespit edilmiş biyomoleküllerin; çoğunlukla bol miktarda bulunan, orta hidrofobikliğe sahip, hücrenin temel yapıtaşlarından olan ribozomal proteinlerle ilişkili oldukları bulunmuştur. MALDI işlemi sırasında iyonize edilen proteinler arasında yapısal proteinler, DNA veya RNA'ya bağlanan proteinler, ribozom modülasyon faktörleri, karbon depolama düzenleyicileri, soğuk-şok proteinleri ve translasyon başlatma faktörleri bulunmaktadır. Bu biyolojik belirteçler, mikroorganizmalar arasında değişen ve cins, tür ve alt türe özgü piklere sahip spektral parmak izleri üretmektedirler (98).

Mikroorganizmaların tanımlanması için; elde edilen protein kütle paternleri, çeşitli bakteri ve maya izolatlarının türlere özgü parmak izlerini içeren, piyasada bulunan ticari referans veritabanları ("Bruker Daltonics for Microflex LT spectrometer", "Vitek MS for bioMérieux spectrometer" ve son olarak geliştirilen "Shimadzu (Shimadzu-Biotech Corp., Kyoto, Japan)" veritabanları) ile birkaç dakika içinde karşılaştırılmaktadır. Bir patern eşleştirme prosedürü aracılığıyla, çalışma spektrumundaki kütle pikleri, veritabanında bulunan referans spektrumlarla eşleştirilmektedir. Elde edilen skorlar cihaz üreticisi tarafından tanımlanan eşik değerlerle karşılaştırıldığında (Bruker Biotyper yazılımı için 2,0'den büyük skor değerleri ve VITEK-MS için % 90'ın üzerindeki skor değerleri), mikroorganizmaların tür seviyesinde doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanmasına izin veren sayısal değerler üretilmektedir. Tanımlama işlemi, numune spektrometre tarafından analiz edilirken, gerçek zamanlı olarak gerçekleştirilmektedir (98).

Klinik tanı amacıyla mikroorganizma tespiti için rutin laboratuvar teknikleri esas olarak biyokimyasal testler, mikroskopi, bakterilerin fenotipik özelliklerinin yorumlanması veya alternatif olarak moleküler biyoloji üzerine kurulu bulunmaktadır. Bu analizler uzmanlık gerektirmekte ve zaman almaktadır. MALDI-TOF teknolojisi ise, analiz için gerekli olan küçük miktarda bir mikrobik biyokütle ile (10^4 - 10^6 CFU), tanımlama için gerekli süreyi 24 - 48 saatten, birkaç dakikaya düşürerek, çok çeşitli türlerin doğru bir şekilde bakteriyel identifikasyonunun yapılmasını sağlamaktadır. Bakteri kolonileri, steril bir çubukla agar ortamından alınıp, çelik MALDI hedef plakası üzerine ince bir film halinde yayılmaktadır. Daha sonra, CHCA (Bruker cihazı için) veya DHB (Vitek MS cihazı için) eklenmekte ve çelik plaka veri elde etmek için kütle spektrometresi içine konulmaktadır. Spektrumlar, referans veritabanında bulunan spektrumlarla kıyaslanıp, kısa sürede sonuçlar elde edilmektedir (98).

Bruker ve Vitek kütle spektrometri sistemlerinin her ikisinin de karşılaştırılabilir sonuçlar ürettikleri ve genel olarak MALDI-TOF yönteminin identifikasyon performansının (% 93,2); BD Phoenix (Becton Dickinson Diagnostic Systems, France) (% 75,6) ve Vitek-2 (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Fransa) (% 75,2) sistemlerinden anlamlı derecede daha iyi olduğu tespit edilmiştir (99). *Shigella* spp., *E. coli, Stenotrophomonas maltophilia, Propionibacterium acnes, Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus oralis/mitis* grubunun üyeleri gibi ribozomal protein dizilerinde düşük oranda farklılıklar bulunan türler, MALDI-TOF kütle spektrometri sistemleri tarafından yanlış tanımlanabilmektedirler. İdentifikasyonun doğruluğu, veritabanlarına girilen bilgilerin sayısına büyük ölçüde bağlı bulunmaktadır. Bu nedenle, MALDI-TOF'un tanımlama performansını arttırmak için referans veritabanlarının güncellenmesi gerekmektedir. İyi karakterize edilmiş türlerin çoklu spektrumlu veritabanı kayıtlarının geliştirilmesi ile, *Neisseria, Clostridia, Mycobacteria, Salmonella,* viridans grubu streptokoklar, *Helicobacter pylori* ve *Campylobacter* türleri için % 100'lük bir tanımlama oranı yakalanabilecektir. Kültürü yapılmış *Mycobacteria* türlerinin güvenilir idendifikasyonu ve sınıflandırılması, MALDI-TOF kütle spektrometrisi ile yeterli bir veri tabanını kullanarak da elde edilebilmektedir (98, 100).

2.1.6.6.3.2. PZR-Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi

PZR-ESİ kütle spektrometrisi ve MALDI-TOF kütle spektrometrisi, türe spesifik spektrum ile mikroorganizmaları tanımlamaktadırlar. PZR-ESİ kütle spektrometrisi, bakteri, mantar ve virüs genomlarında korunmuş ve türe özgü bölgelere odaklanan birçok lokustan oluşan PZR amplikonlarının m/z oranlarını ölçerek, veri tabanlarındaki karşılaştırmalı analizlerle mikroorganizmaların baz kompozisyonlarını tanımlamaktadır. Bu yöntemle, patojenlerin hızlı identifikasyonu (6 saat civarı) yapılabilmektedir. Örneklerin doğrudan test edilebilmesi önemli avantajlarından bir diğeridir. Bu yöntemle; bakteriler, mantarlar ve virüsler gibi birçok patojen saptanmaktadır, ayrıca direnç tipleme gibi alanlarda da bu yöntem kullanılabilmektedir. Polimikrobiyal enfeksiyonlarda, birden fazla sayıda patojen, bu yöntemle aynı anda tanımlanabilmektedir (75, 101).

2.1.6.7. Diğer Tanı Testleri

Patojenlerin antijen tayini, tanı testleri içinde yer almaktadır. Bunun için immunokromatografik testler, ELISA, lateks aglütinasyon testi yapılabilmektedir. Bu yöntemler hızlı, ucuz ve kullanışlıdır (102). Bazı bakteriler kültürde üretilirken hastalığa sebep olan toksinin saptanabilmesi için başka testler yapılması gerekmektedir. EHEC, ETEC, *B. cereus, S. aureus C. botulinum, C. difficile* bu bakteriler içinde yer almaktadır. EHEC ve *C. difficile* toksininin tespiti için ticari testler bulunmaktadır. Ancak, diğer toksinler halk sağlığı ve referans laboratuvarlarda çalışılabilmektedir (63).

2.1.7. Tedavi

Akut gastroenterit nedeniyle gelişen ishalin primer tedavisi, şeker ve tuz içeren solüsyonlarla (örneğin tuzlu bisküvi eklenmiş şekerli çay gibi) oral rehidrasyonun sağlanmasıdır. Olası alternatiflere örnek olarak; şeker ve tuz eklenmiş, seyreltilmiş meyve suları veya özel bir rehidrasyon solüsyonu verilebilmektedir. Pirinç lapası, masif dehidrasyonu olan infantlar için oldukça iyi bir tercih olarak görülmektedir (103). DSÖ ise, ishal tedavisi için oral rehidrasyon tuzları (ORS) çözeltisi olarak bilinen bir karışımı önermektedir. Tablo 11'de bu karışımın bileşimi görülmektedir (104).

Tablo 11. DSÖ tarafından ishal tedavisi için önerilen ORS çözeltisinin bileşimi

ORS (DSÖ)	gr/L	%	ORS (DSÖ)	milimol/L
Sodyum klorür	2,6	12,7	**Sodyum**	75
Glukoz, anhidroz	13,5	65,9	**Klor**	65
Potasyum klorür	1,5	7,3	**Glukoz, anhidroz**	75
Trisodyum sitrat dihidrat	2,9	14,1	**Potasyum**	20
			Sitrat	10
Toplam	20,5	100	**Total Osmolarite**	245

104 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Oral rehidrasyonun, her zaman intravenöz sıvı replasmanına tercih edilmesi gerektiği önerilmektedir. Kusan hastalar için antiemetik tedavi (örneğin "metoclopramide" ile) gerekebilmektedir. İshale, karın krampları eşlik ediyorsa, spazmolitik aktiviteye sahip olduğu için, metamizol ile analjezi sağlanabilmekle beraber, klinik uygulamalarda oldukça nadir bir şekilde uygulandığı görülmektedir. N-butil-skopolamin de tedavi seçenekleri arasında olmasına rağmen, hastalarda genellikle ağız kuruluğu, çarpıntı ve midriyazis gibi istenmeyen, fakat geri dönüşümlü antikolinerjik yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Şiddetli vakalarda (vücut ağırlığında % 10'unun üzerinde azalmaya, dolaşım şokuna veya bilinç bozukluğuna neden olan dehidrasyon) veya sürekli şiddetli kusmaları olan hastalarda, intravenöz infüzyonla, tercihen tam elektrolit solüsyonlarıyla rehidratasyon yapılması gerekmektedir (103).

Hastaların, loperamid gibi motilite inhibitörleri ile tedavi edilmeleri genellikle önerilmemektedir, çünkü bu ilaç bağırsaklarda aşırı patojen yoğunluğu oluşumu veya toksinlerin çoğalması riskini artırarak hastalık süresinin uzamasına ve ek komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu nedenle, hemorajik diyarede veya şüpheli *C. difficile* enfeksiyonlarında, uzun süreli ateş ile seyreden şiddetli şigellozda, HÜS gelişmiş STEC enfeksiyonlarında, *C. difficile* enfeksiyonları nedeniyle oluşan toksik megakolon durumlarında motilite inhibitörlerinin kullanımı kesinlikle kontraendikedir. Dahası, motilite inhibisyonuyla salgılama azalmamakta, bu nedenle hastanın bağırsak hareketlerinin azalmasına ilave olarak, bağırsaklar içinde çok miktarda su birikmekte ve şiddetli su kaybı oluşmaktadır. Hemorajik olmayan ve ateşin eşlik etmediği ishal vakalarında, loperamid ile yalnızca iki günlük kısa süreli semptomatik bir tedavi düşünülebilir. Bizmut subsalisilat ise, antiinflamatuar ve antibakteriyel aktivitesi olan bir ilaç olması nedeniyle, özellikle Kuzey Amerika'da yaygın olarak kullanılmakla beraber, Avrupa'da genellikle kullanılmamaktadır. Enfeksiyöz ishali olan hastaların büyük çoğunluğunda kendi kendini sınırlayan bir hastalık seyri görüldüğü için, genellikle tıbbi yardıma başvurulmamaktadır. Hastalığı şiddetli seyreden; belirgin dehidratasyonu, ateşi, kanlı ishali, altta yatan immün yetmezliği, yakın zamanda antibiyotik kullanım öyküsü, ileri yaşı, eşlik eden belirgin komorbiditeleri veya hastaneye yatış öyküsü bulunan hastaların dışkı örneklerinin, *Salmonella, Campylobacter* ve *Shigella* türleri ile STEC ve *C. difficile* açısından araştırılması gerekmektedir (103).

Yapılan çalışmalarda, genel ampirik antibiyotik tedavisinin akut ishalde fayda sağlayıp sağlamadığı henüz tam olarak gösterilememiştir. İsveç'te yapılan bir çalışmada, norfloksasin ile yapılan tedavinin, *Campylobacter* enteritinin süresinde hafif bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Antimikrobiyal tedavinin salmonellozlu hastalarda ise belirgin bir etkisi gösterilememiştir. Gastroenteritli hastalarda, antibiyotik tedavisinin olası yan etkilerinin de (STEC enfeksiyonunda HÜS gelişebilmesi; salmonellozda asemptomatik taşıyıcılığın artabilmesi; antibiyotik kullanımına bağlı *C. difficile* enfeksiyonu gelişebilmesi gibi) göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Antibiyotik tedavilerinin istenmeyen bir diğer sonucu ise, antibiyotiklere karşı dirençli genlerin oluşumuna yol açmalarıdır. Bununla birlikte, yüksek dışkılama frekansı ($\geq$ 6/gün), bir haftadan uzun süre devam eden semptomları, ateşi, kanlı diyaresi, altta yatan immün yetmezliği, ileri yaşı veya

önemli komorbiditeleri olan ciddi hastalar için ampirik antibiyotik tedavisinin düşünülmesi gerekmektedir (103).

Ampirik tedavi amacıyla, direncin artması nedeniyle kullanımı giderek kısıtlanmasına rağmen, "ciprofloxacin" en çok tercih edilen ilaçlardan biridir. Diğer alternatif olarak "azithromycin" (1 × 500 miligram (mg), p.o. (oral yolla), 3 gün) de tercih edilebilmektedir. Noninvaziv akut diyarenin ampirik tedavisinde, florokinolonların veya makrolidlerin tek bir dozunun da etkili olduğu bulunmuştur. Daha hafif vakalarda, absorbe edilemeyen bir antibiyotik olan "rifaximin" kullanımı da önerilen tedavi seçenekleri arasındadır. Bununla birlikte, şiddetli enfeksiyöz diyarenin spesifik tedavisi için, dışkının mikrobiyolojik tanı amacıyla incelenip, etkene göre hareket edilmesi gerekmektedir. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan patojenlerle, tedavi prensiplerini içeren bilgiler tablo 12, tablo 13 ve tablo 14'te özetlenmiştir (103, 105).

Tablo 12. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan virüsler ve tedavi seçenekleri

VİRÜSLER	İNKÜBASYON PERİYODU	HASTALIK SÜRESİ	TEDAVİ
Norovirüs	Yaklaşık 1 gün	1 - 2 gün	Semptomatik
Astrovirüs	Yaklaşık 1 gün	2 - 3 gün	Semptomatik
Rotavirüs	Yaklaşık 1 gün	5 - 7 gün	Semptomatik
Adenovirüs	Yaklaşık 1 gün	12 güne kadar	Semptomatik

103 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Tablo 13. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan bakteriler ve tedavi seçenekleri

BAKTERİLER	İNKÜBASYON PERİYODU	HASTALIK SÜRESİ	TEDAVİ
***Salmonella* spp.**	1 - 3 gün	1 - 3 hafta	Sadece invaziv hastalığı bulunan vakalarda: Siprofloksasin, Azitromisin
***Shigella* spp.**	1 - 8 gün	3 günden 1 haftaya kadar (nadiren 4 haftaya kadar uzayabilmektedir)	Siprofloksasin, Azitromisin
***Campylobacter* spp.**	1 - 4 gün	1 haftaya kadar	Şiddetli vakalarda: Azitromisin, Siprofloksasin
EIEC, EHEC	1 - 14 gün	3 - 7 gün	Semptomatiktir, antibiyotik tedavisi gerekmez (Azitromisin, bakteri yayılım süresini azaltmak için düşünülebilir)
ETEC, EPEC	1 - 2 gün	3 - 7 gün	Şiddetli vakalarda: Siprofloksasin, Azitromisin, Rifaksimin
***Yersinia* spp.**	1 - 3 gün	1 - 3 hafta	Şiddetli vakalarda: Siprofloksasin, Doksisiklin
L. monocytogenes	1 - 6 gün	1 haftaya kadar	Sadece invaziv hastalığı bulunan vakalarda: Ampisilin, Gentamisin
V. cholerae	1 - 3 gün	Bireysel değişkenlik göstermektedir	Siprofloksasin, Azitromisin
C. difficile	Çok değişken	Bireysel değişkenlik göstermektedir, birkaç aya kadar uzayabilmektedir	Metronidazol, Vankomisin, Fidaksomisin
***S. aureus*'un bakteriyel toksinleri**	Saatler	1 - 2 gün	Antibiyotik tedavisi gerekmez
***B. cereus*'un bakteriyel toksinleri**	Saatler	1 - 2 gün	Antibiyotik tedavisi gerekmez
***C. perfringens*'in bakteriyel toksinleri**	Saatler	1 - 2 gün	Antibiyotik tedavisi gerekmez

103 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Tablo 14. Enfeksiyöz ishalde önemli yeri olan parazitler ve tedavi seçenekleri

PARAZİTLER	İNKÜBASYON PERİYODU	HASTALIK SÜRESİ	TEDAVİ
C. parvum	3 - 12 gün	İmmünokompetan hastalarda genellikle kendi kendini sınırlamaktadır	HIV-Pozitif hastalarda: Antiretroviral tedavi başlanır
G. lamblia	7 - 10 gün	Tedavi edilmezse aylarca veya yıllarca sürebilmektedir	Metronidazol, Albendazol
E. histolytica	11 - 21 gün, bazen daha uzun	Tedavi edilmezse aylarca sürebilmektedir	Metronidazol (invaziv enfeksiyonu olan vakalarda), Paromomisin (İntraluminal kist eradikasyonu amacıyla)

103 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.2. Bakteriyel Gastroenterit Etkenleri

2.2.1. *Campylobacter* Türleri

2.2.1.1. Tarihçe

Campylobacter ilk defa 1886 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır. "Cholerae Infantum" hastalığına yakalanıp ölen çocukların kolonlarında spiral şeklinde bakteri olarak görülmüştür. Ama kültürde saptanamamıştır (26). Vincent ve arkadaşları 1947'de septik abortus vakasından *Vibrio fetus*'u kanda üretmişler ve *Campylobacter* ilk defa insanda enfeksiyon etkeni olarak saptanmıştır. 1963 yılına kadar *Campylobacter*'ler "*Vibrio* benzeri organizmalar" olarak sınıflandırılmış, bu tarihten itibaren ise Sebald ile Veron, şekillerine, düşük DNA baz kompozisyonlarına, mikroaerofilik ortamda büyüme gereksinimlerine ve nonfermantatif metabolizmalarına göre *Vibrio*'lardan bu bakterileri ayırmışlar ve kıvrık basil anlamına gelen "*Campylobacter*" olarak isimlendirmişlerdir. 1972'de akut gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinden *Campylobacter* üretilerek insanlarda enterite yol açtığı kesinleşmiştir (106, 107).

2.2.1.2. Sınıflandırma

*Campylobacter'*ler şu şekilde sınıflandırılmaktadır (108):

Alem: Bacteria

Şube: Proteobacteria

Sınıf: Epsilonproteobacteria

Takım: Campylobacterales

Aile: *Campylobacteraceae*

Cins: *Campylobacter*

Campylobacter cinsi 26 türden oluşan geniş bir bakteri grubudur. İnsanlarda en sık hastalığa yol açan türler, *C. jejuni* ve *C. coli* olmakla birlikte, ek olarak insanlardan 15 farklı *Campylobacter* türü izole edilmiştir. *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis*, genetik açıdan yakın ilişkili olan türlerdir ve 42 °C'de optimal büyüme gösterdiklerinden termotoleran *Campylobacter'*ler olarak adlandırılmaktadırlar. Geri kalan *Campylobacter* türleri 3 genel gruba ayrılmaktadır (109):

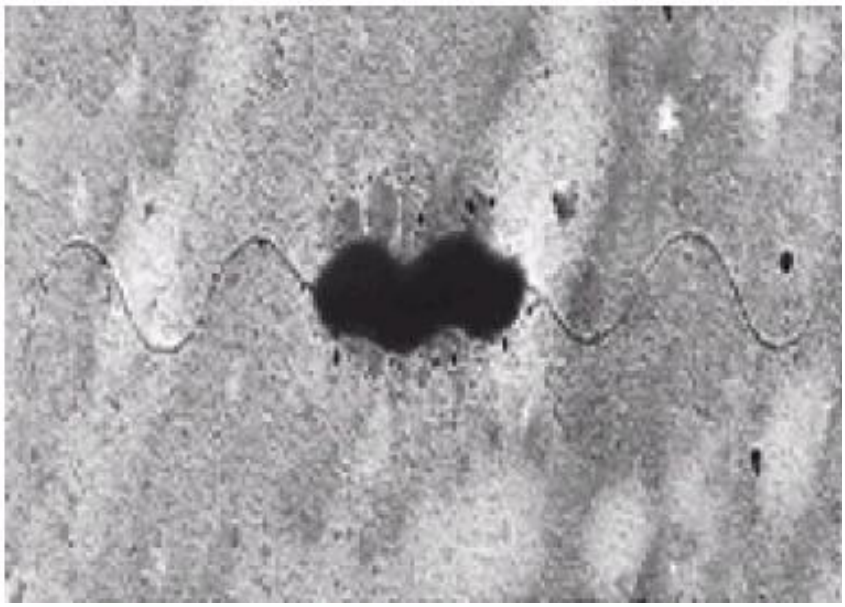
1) İnsanlarda seyrek olarak hastalığa neden olan ve hayvancılıkla ilgili hayvanlarla ilişkili türler (ör. *C. fetus, C. sputorum* ve *C. hyointestinalis*)

2) İnsanlarda periodontal hastalıkla ilişkili olan türler (ör. *C. concisus, C. curvus, C. hominis, C. rectus, C. gracilis, C. showae*)

3) Yiyeceklerden veya sulardan izole edilememiş ve insan hastalıklarıyla ilişkili olmayan türler (ör. *C. insulaenigrae, C. helveticus, C.canadensis*).

2.2.1.3. Morfoloji

Campylobacter türleri 0,2-0,9 mikrometre (µm) çapında, 0,5-5 µm uzunluğunda, kıvrık, S şeklinde, hareketli, sporsuz, Gram negatif çomaklardır (110). Yunanca kıvrımlı anlamına *Campylos* kelimesinden türetilmiştir (111). Ancak, *C. hominis* gibi bazı türler düz çomak şeklinde görünmektedir. Uzun süre hava ile temas varsa veya kültür eski ise koloniler kok gibi yuvarlak şekilde olabilmektedirler (110). Katalaz ve oksidaz (*C. gracilis* hariç) testleri pozitiftir. Hareketli bir bakteridir. Büyük bir disk yapısındaki bazal cisimcik, bazal cisimciğe bağlı, onu döndüren bir kanca ve bu kancaya bağlı 20 µm çapındaki bir fiber yapısından oluşan, hücrenin her iki ucunda bir veya daha fazla sayıda bulunan flagellalar hücrenin hareketini sağlamaktadır. Tirbüşon hareketine benzer şekilde dönmektedirler. Bu hareket intestinal mukoza hücrelerine penetrasyon için gerekli olmaktadır (112). Ayrıca hareketli, ince yapıda oldukları için diğer enterik bakterilerin geçemediği ve izolasyonda kullanılan 0,45 – 0,65 µm por çapına sahip olan membran filtrelerden rahatlıkla geçebilmektedirler (110). Şekil 1'de bir *Campylobacter*'e ait elektron mikrografı görülmektedir (23).



Şekil 1. Bir *Campylobacter*'e ait elektron mikrografı (x6650) (23 numaralı kaynaktan alınmıştır)

Çoğu *Campylobacter* türü mikroaerobiktir ve % 5-10'luk oksijenli ortama ihtiyaç duymaktadırlar (63). Bazı türler kan kültüründen üretilebilmektedir ve bunların üreyebilmeleri için anaerobik inkübasyon gerekmektedir. Zor üreyen bu türler artmış hidrojene gereksinim duymaktadırlar. Bunlar; *C. sputorum, C.concisus, C. curvus, C. mucosalis* ve *C. hyointestinalis*'tir (63). En iyi üreme ısısı 42 °C olmasına rağmen daha düşük veya daha yüksek ısılarda (30,5 - 45 °C) da üretilebilmektedirler (112).

Bakterilerin yüzey yapısı, konak savunma mekanizmasının aşılmasına olanak sağlamaktadır. Bakteri hücre yüzeyi bileşenleri, hücre zarının dışındaki proteinler (OMP), lipopolisakkarit (LPS), glikokaliks ve hücre yüzeyini aşan toksinler gibi ürünlerdir. Bu ürünler, konak hücrelerinde hasara yol açmaktadır. *C. fetus*, esas olarak mikrokapsül oluşturmak için, yüzey tabakasının şeklini alabilen bir M-protein antijenini üretmektedir. Bu tabaka antifagositik yapıdadır ve *C. fetus* enfeksiyonunun patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Flagella, protein yapıda olması nedeniyle *C. jejuni*'nin önemli bir yüzey antijenini oluşturmakla beraber, diğer *Campylobacter* türlerinde, flagella adezyon faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır (112).

Guillain Barre Sendromu'nun (GBS) immünopatogeneziyle ilgili şu anda tercih edilen hipotez, *C. jejuni* LPS'i ile periferik sinirlerde eksprese edilen gangliyozidler arasındaki moleküler benzerlik nedeniyle *C. jejuni* LPS'ine karşı oluşan antikorlar çapraz reaksiyonla periferik sinirlere hasar vermektedir (113).

2.2.1.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez

Campylobacter patogenezi, konağın duyarlılığı ve enfeksiyona neden olan bakterinin virulansı ile parellik göstermektedir. Konağın bağırsaktaki müsin bariyeri, özgül ve özgül olmayan konak yanıtı ve bağırsak peristaltizmi gibi faktörler konak faktörleri arasında sayılmaktadır (26). *Campylobacter'*lerin virulans faktörleri arasında ise; lipopolisakkarit yapı, somatik O antijeni, motilite (flagellaları aracılığıyla), adezyon, invazyon ve bakteriyel toksinler sayılabilmektedir. Ayrıca, *C. fetus*'un çevresinde bulunan yüzey (S) tabakasının ise kapsül görevi görerek, fagositozu önlediği ve *C. fetus*'un bağırsak dışı yayılımından bu protein tabakasının sorumlu olduğu bildirilmiştir (111, 114).

İnce bağırsağın kolonizasyonu, mukus bariyerini aşmak için yeterli etkinliğe sahip flagellaların hareketiyle artış göstermektedir (115). *C. jejuni* ve *C. coli*'nin flagellaları,

sırasıyla *flaA* ve *flaB* genleri tarafından kodlanan, FlaA ve FlaB isimli iki flagellin tarafından oluşturulmaktadır. *flaA* ve *flaB* genleri, sırasıyla σ^{28} ve σ^{54} promotörlerinin kontrolü altında eksprese edilmektedir. *flaA* geninin ekspresyonu daha fazla olmaktadır ve FlaA proteini normalde flagellumu oluşturan ana proteindir (116). Mutant *flaA* gen ekspresyonuyla oluşan flagellaların immotil olduğu, mutant *flaB* varlığında ise flagella hareketlerinin normal olduğu gösterilmiştir (117). *flaA* geninin, epitel hücrelerinin invazyonunda ve gastrointestinal sisteme invazyonda (ve kolonizasyonda) önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (118). Bunlara ek olarak, *C. jejuni*'de bulunan, O-bağlantılı glikozile edilmiş flagellin proteininden oluşan bir polar flagellumun, bağırsak epitel hücrelerine bağlanmada önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. FlgS sensörü ve FlgR yanıt düzenleyicisinden oluşan iki bileşenli bir sistemin, *Campylobacter*'deki flagellumun düzenlenmesi için hayati bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir (119). '*Campylobacte*r'lerin önemli bazı virulans faktörleri ve ilgili proteinler tablo 15'te gösterilmektedir (114).

Tablo 15. '*Campylobacter*'lerin önemli bazı virulans faktörleri ve ilgili proteinler

VİRULANS FAKTÖRÜ	AÇIKLAMALAR	İLGİLİ PROTEİNLER
Motilite	*Campylobacter*'in flagellası, ince bağırsağın mukus bariyerinin geçilmesini sağlayarak, kolonizasyonu arttırıcı etki göstermektedir.	FlaA, FlaB, FlgS, FlgR
Adezyon	Adezyon yeteneği ile hastalığın şiddeti arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir.	CadF, CapA, PEB1
İnvazyon	*C. jejuni*; invazyonuyla, kolonda mukoza hasarına neden olmaktadır.	CadF, CPS, LOS, Cia
Bakteriyel toksin	*Campylobacter* tarafından üretilen "sitoletal distansiyon toksini", hücrelerin genişlemesine neden olmakta ve sonunda hücre ölümü gerçekleşmektedir.	CdtA, CdtB, CdtC

114 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Campylobacter ile enfekte hasta hücrelerinin adezyon derecesi ile semptomların şiddeti arasında korelasyon olduğunun gösterilmesiyle, adezyonun; *Campylobacter*

virulansının önemli bir faktörü olduğu tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada, *C. jejuni*'nin; CadF (fibronektin bağlayıcı dış zar proteini), CapA (ototransporter) ve PEB1 (periplazmik bağlama proteini) gibi bazı yapışma faktörlerine sahip olduğu gösterilmiştir. CadF'nin fibronektine bağlanarak hücre adezyonuna aracılık etmesinin, çok önemli bir virulans faktörü olduğu düşünülmektedir; çünkü CadF mutasyonlarında, patojenitenin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, farklı hayvan modelleriyle yapılan çok sayıda çalışmada, enfeksiyonun erken evrelerinde mukozal hasarın, *C. jejuni*'nin kolondaki epitel hücrelerine invazyonundan kaynaklandığının ortaya koyulmasıyla, *Campylobacter*'in invazyon kabiliyetinin, virulans ile ilişkili önemli faktörlerden biri olduğu anlaşılmıştır (114). İnvaziv *C. jejuni* suşları bağırsak hücrelerini invaze ederken, CadF yapışmada ikili bir rol oynamaktadır. Bu protein, hem *C. jejuni*'nin fibronektine bağlanarak konakçı hücrelere bağlanmasına yardımcı olmakta, hem de hücre içi haberci sistemlerini aktive eden sinyal üretimini tetiklemektedir (120). Yüksek molekül ağırlıklı bir plazmid olan pVir'in varlığı da virulansla ilgili olup, *C. jejuni*'nin invazyon yeteneğini artırmaktadır. Bu plazmid, bazı klinik *Campylobacter* izolatlarında tanımlanmış ve kanlı dışkılamayla anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (111).

"Sitoletal distansiyon toksini" (CDT); *C. jejuni*, *C. lari*, *C. coli*, *C. fetus* ve *C. upsaliensis*'i içeren *Campylobacter* türlerinin ürettiği bir toksindir ve bu mikroorganizmaların patogenezinde yer alan anahtar virulans faktörlerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Bu toksin, çok sayıda memeli hücresinde uzama ve şişme yaparak, hücre distansiyonu oluşturmakta, bu olayın ardından ise hücre ölümü gerçekleşmektedir. *cdtA*, *cdtB* ve *cdtC* genleri tarafından kodlanan CDT holotoksini; ökaryotik hücredeki hücre döngüsünü G2 fazında bloke etmekte, böylece bu hücrelerin mitoza girmelerini engellemekte ve dolayısıyla hücre ölümüne yol açmaktadır. *C. jejuni* enfeksiyonlarında CDT'nin, insanlarda interlökin üretimini (IL-8) indüklediğinden ve bağırsakta inflamasyona neden olduğundan, invazyon ve immün yanıtlarla da ilişkili olabileceği düşünülmektedir (114). *Campylobacter* dış membranları, tipik endotoksik aktiviteye sahip olan lipopolisakkaritler içermektedir. Lipopolisakkarit O-antijeninin yapısı oldukça değişkenlik göstermektedir. Birçok *C. jejuni* O-antijeni, yapısında sialik asit bulundurmaktadır. Bu antijenlerin; GM_1, GD_{1a}, GD_3 ve GT_{1a} gibi insan gangliozidleriyle yakın benzerliklere sahip olmaları ve GBS'lu hastalarda bu antijenik yapıları içeren

suşların varlığının gösterilmesi nedeniyle, bu sendromun patogenezinde *Campylobacter* enfeksiyonlarının da rolünün olduğu düşünülmektedir (111).

Vücuda alınan *Campylobacter*'lerin, hastalık tablosu oluşturabilmesi için belirli koşullar gerekmektedir. Bu koşullar arasında, ince bağırsağa geçen organizma sayısı, enfekte eden suşun virulansı ve konağın organizmaya karşı geliştirdiği özgül immün yanıtın durumu sayılabilmektedir. Gönüllülerde yapılan çalışmalarda, enfeksiyon oluşabilmesi için en az 500 bakterinin vücuda alınması gerektiği ve 10^4'ün altında bakteri alındığında klinik bulguların daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Hastalığın inkübasyon süresi, alınan patojen miktarına göre değişmekle birlikte, 18 saat ile 8 gün (ortalama 3,2 gün) arasında değişmektiği bilinmektedir (26, 111). Enfeksiyon, genellikle jejunum ve ileumun proksimal kısmından başlamakta, ardından ileumun distaline ve kolona yayılmaktadır. Etkilenen bölgelerde yaygın ödem ve eksüdatif enterit oluşmakta, mikroskobik olarak da lamina propria tabakasında nötrofil, eozinofil ve mononükleer hücre birikimi, dejenerasyon, atrofi, mukus kaybı, epitelyal bezlerde kriptik apseler ve mukoza epitelinde ülserleşme meydana gelmektedir (111).

Campylobacter enfeksiyonları gelişmekte olan ülkelerde genellikle sulu, inflamasyona yol açmayan ishalle seyrederken, gelişmiş ülkelerde tipik olarak akut inflamatuar ishal şeklinde görülmektedir. *C. jejuni* veya *C. coli* enfeksiyonlarının hastalık oluşturma şekilleri şu şekilde özetlenebilmektedir (26):

1) Bakterilerin, bağırsağa tutunmaları sonucunda, bakteriyel toksinlerin oluşumu ve bunun sonucunda sulu ishal ortaya çıkması.

2) Bakterilerin invazyonları ve bağırsak mukozasında proliferasyonları sonucu meydana gelen hücre hasarı ve inflamatuar yanıt ile birlikte dışkıda lökosit ve/veya dizanteri formuyla seyreden inflamatuar ishal gelişmesi.

3) Bakterilerin, intestinal mukozayı geçerek lenfatik yolla, bağırsak dışındaki bölgelerde (meninks, mezenter lenf bezleri, üriner sistem gibi) enfeksiyon oluşturması.

Campylobacter türleri ile enfekte olan hastaların, enfeksiyonu geçirdikten sonra hastalıktan korundukları, bu bakterilere karşı serumlarında spesifik IgG, IgM, IgA ve

bağırsak sekresyonlarında spesifik IgA antikorları tespit edilmiştir. Konjenital ve kazanılmış hipogamaglobulinemisi olan hastalarda ise *C.jejuni* enfeksiyonlarının daha ağır seyrettiği, bu enfeksiyonlarda humoral bağışıklığın hastalıktan korunmada önemli rol oynadığı gösterilmiştir. AIDS olan hastalarda yapılan incelemelerde, bu enfeksiyona karşı hücresel immün yanıtın da önemli olduğu belirlenmiştir (111).

2.2.1.5. Klinik ve Epidemiyoloji

Kampilobakteriyoz dünya çapında bir zoonozdur. *Campylobacter* türleri kommensal olarak kümes hayvanları, sığır, koyun, domuz, keçi, kemirgenler, köpek, kedi gibi hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunmaktadırlar. Ayrıca evcil hayvanlarda da bulunabilmektedirler. İnsanlarda periodontal hastalığa sebep olan *C. showae, C. rectus, C. concisus, C. curvus* için insan tek rezervuardır (110, 111). *C. jejuni*'nin çok çeşitli rezervuarları vardır. Ancak, *C. coli* ve *C. hyointestinalis* en sık domuzlardan ve *C. upsaliensis* en sık köpeklerden izole edilmektedir (111). İnsanlara en çok bulaş kümes hayvanlarından olmaktadır. Diğer risk faktörleri hayvansal ürün ve su tüketimini, hayvanlarla teması ve uluslararası seyahatleri kapsamaktadır (121).

Her yıl tüm dünyada her 10 kişiden biri kampilobakteriyoz vakalarını da içeren gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmakta, bu durumun tüm dünya sağlığına maliyeti oldukça ağır olmakta ve bu hastalıklar nedeniyle toplamda 33 milyon sağlıklı yaşam yılı kaybolmaktadır. *Campylobacter*, dünya çapında ishalli hastalıklara sebep olan dört ana nedenden biridir. *Campylobacter* ishalinin yüksek insidansı, süresi ve olası komplikasyonları, sosyo-ekonomik açıdan son derece önemlidir. Gelişmekte olan ülkelerde iki yaşın altındaki çocuklarda C*ampylobacter* enfeksiyonları özellikle sık görülmekte ve bazen ölümle sonuçlanmaktadır (122).

Geçen yüzyılda en yaygın görülen bulaşıcı hastalıklardan birinin *C. jejuni* olduğu saptanmıştır. *Campylobacter* insidansı ve prevalansı son 10 yılda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artmıştır. Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'daki dramatik artış kaygı verici olarak değerlendirilmekte; Afrika, Asya ve Orta Doğu bölgelerinden gelen epidemiyolojik veriler halen eksik olsa da, veriler bu bölgelerde özellikle çocuklarda *Campylobacter* enfeksiyonunun endemik olduğunu göstermektedir. Bildirilen insidans ve vaka sayıları ülkeler arasında farklılık gösterebildiği gibi aynı ülke içinde bile değişiklik gösterebilmektedir. Bu çeşitliliğin sebebi tanı yöntemlerinin duyarlılığının ve bölgenin,

popülasyonun, çalışmaya alınan vaka profilinin, yeme alışkanlıklarının, *Campylobacter* için bulunan rezervuarların farlılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. *C. jejuni* ve *C. coli* enfeksiyonları ile ilgili bildirilen vakalar, muhtemelen eksik bildirim nedeniyle gerçek sayının çok az bir kısmını temsil etmektedir (121). Gerçek insidansın bildirilenden 8-30 kat daha fazla olduğu düşünülmektedir (123). *Campylobacter*'in endemik olduğu gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyonların büyük bir çoğunluğu genellikle çocuklarda görülmekte, yaşla birlikte hastalık/enfeksiyon oranları azalırken, erken yaşta enfeksiyona maruz kalmanın, koruyucu bağışıklığın gelişmesine yol açabileceği düşünülmektedir. Çocukluk çağında geçirilen bu enfeksiyonlar genellikle semptomatikken, erişkin dönemde geçirilen enfeksiyonlar kazanılmış bağışıklıkla ilişkili olarak çoğunlukla asemptomatiktir (121). *Campylobacter* enfeksiyonları gelişmiş ülkelerde her yaşta görülmekle birlikte, bir yaşın altındaki çocuklarda ve 15-29 yaş grubundaki erişkinlerde daha sık bildirilmektedir (110, 111). *Campylobacter* enfeksiyonları tüm yaş gruplarında, erkeklerde kadınlardan daha fazla görülmektedir. Bu durumun fizyolojik/immünolojik ve beslenme alışkanlıklarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (124). İnsidans mart ayında artmaya başlamakta, yaz aylarında en yüksek seviyesine ulaşmakta ve sonbahar erken dönemlerinde düşmeye başlamaktadır (110). Sıcaklık artışıyla seyreden iklim değişiklikleri *Campylobacter* enfeksiyonunu önemli derecede etkilemektedir. Ortam sıcaklığındaki 1°C'lik artış gıdaya bağlı gastrointestinal enfeksiyon insidansının ortalama % 4-5 oranında artmasına neden olabilmektedir (123).

DSÖ'nün 2010 yılında yaptığı çalışmaya göre, 166 milyon civarında insan *Campylobacter* spp. yüzünden hastalanmış, yaklaşık 38 bin kişi yaşamını yitirmiş ve bu enfeksiyon sebebiyle 3.733.822 yaşam yılı kaybı olmuştur. Beş yaş altı çocuklardan yaklaşık 48 bini *Campylobacter* spp. nedeniyle hastalanmış, yaklaşık 14 bini yaşamını yitirmiş ve 1.383.499 yaşam yılı kaybı olmuştur (125). 27 Avrupa Birliği (AB) üyesi ülkedeki kampilobakteriyoz epidemiyolojisinin en güncel değerlendirmesinde, 2009 yılında *Campylobacter* enfeksiyonlarının 100.000'de 29,9 ile 13.500 arasında değişebileceğini göstermiştir (126). Avrupa'da *Campylobacter* 2012 yılında 100.000 nüfusta 55,5 oranla insidansı en yüksek olan bakteriyel gastroenterit etkeni olarak saptanmıştır (127). ABD'de, *Campylobacter* enfeksiyonları *Salmonella*'nın ardından, 100.000 nüfusta 13,8 bildirim oranı ile ikinci sırada yer almaktadır (128).

Campylobacter enfeksiyonları genellikle sporadiktir (110). Ancak, *Campylobacter* spp. nedeniyle oluşan salgınlar nadir değildir. Bu salgınlar çeşitli sebeplere bağlı olarak gerçekleşmektedir. Salgınlara neden olduğu en yaygın bildirilen *Campylobacter* kaynağı, kümes hayvanlarının ürünlerinin veya suyun tüketimidir. 1992 ile 2009 yılları arasında İngiltere'de toplam 143 salgın görülmüş; bunların 114'ü kirlenmiş gıda veya su kaynaklı, 2'si hayvansal temas nedeniyle ve 22'si de bilinmeyen bir yolla oluşmuştur (121).

C. jejuni ve *C. coli*, ishalli hastalıklarla ilişkili en yaygın *Campylobacter* türleridirler ve neden oldukları enfeksiyonlar ise klinik olarak ayırt edilememektedir. Laboratuvarların çoğu, bu organizmaların ayrımını rutin olarak yapmamaktadırlar. *C. jejuni*/*C. coli* kaynaklı gastroenteriti bulunan hastaların hiç semptomları olmayabileceği gibi ateş, abdominal kramp ve diyareyi (kanlı veya kansız, fekal lökosit bulunan ya da bulunmayan) de içeren şiddetli semptomları olabilmektedir. Hastalık birkaç günde sonlanabileceği gibi, bir haftadan fazla da sürebilmektedir. Hastalığın inkübasyon süresi 1-7 gün arasında değişmekle beraber, genel olarak 3 gündür. Semptomatik enfeksiyonlar genellikle kendiliğinden sınırlanmaktadır, ancak tedavi edilmemiş hastaların % 5-10'unda nüksler ortaya çıkabilmektedir (110).

Campylobacter enfeksiyonu, akut apandisiti taklit edebilmekte ve gereksiz ameliyatlara neden olabilmektedir. *Campylobacter* enteriti ile beraber görülebilen çeşitli ekstraintestinal enfeksiyonlar bulunabilmektedir. Bunlar arasında hepatit, kolesistit, pankreatit, düşük yapma ve yenidoğan sepsisi, nefrit, prostatit, idrar yolu enfeksiyonu, peritonit, miyokardit, menenjit, septik artrit ve apse oluşumu gibi durumlar sayılabilmektedir. Vakaların yaklaşık binde 1,5 kadar kısmında bakteriyemi görüldüğü ve bu durumun da en çok yaşlılarda ortaya çıktığı tespit edilmiştir. HIV enfeksiyonlu hastalar gibi immün yetmezliği bulunan kişlerde, persistan diyare ile birlikte bakteriyemi görülebilmekte ve böyle hastaların tedavileri çok zor olabilmektedir. *C. jejuni* enfeksiyonuna bağlı ölümler nadir görülmektedir (110).

C. jejuni'nin, periferik sinir sisteminin akut paralitik bir hastalığı olan GBS gelişmesinden önce en sık görülen enfeksiyon ajanı olduğu belirlenmiştir. HS: 19 ve HS: 41 gibi bazı ısıya dayanıklı (HS: Heat Stabil) serotiplerin, GBS vakalarında oldukça sık görüldükleri tespit edilmiştir. Bununla beraber, diğer yaygın bazı serotiplerin de bu vakalarda sıklıkla rapor edildikleri gözlenmektedir. *Campylobacter* kaynaklı GBS

patogenezinde; gangliozid hedefleri açısından oldukça zengin olan periferik sinirlerdeki lipooligosakkarid çekirdek bölgelerinde bulunan gangliozidlere benzer epitoplara karşı gelişen immün yanıtlar rol oynamaktadır. Bazen *Campylobacter* enfeksiyonunun ardından reaktif artrit de gelişebilmektedir. Bu durumda görülen ağrının başlaması ve eklem şişmesi ortalama 2 haftayı bulmakta olup, ortalama süresi birkaç haftadan bir yıla kadar uzayabilmektedir. Bu hastalarda ayrıca Reiter Sendromu da görülebilmektedir. Bu tür hastalarda HLA B27 varlığının, reaktif artrit oluşumu için risk oluşturduğuna dair literatür bilgileri bulunmaktadır (110).

C. jejuni ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* türleri, bu türler için daha uygun kültür yöntemlerinin geliştirilmesi sonucunda, insan enfeksiyonlarından giderek daha fazla oranda izole edilmeye başlanmıştır. *C. fetus* subsp. *fetus*, esas olarak bakteriyemi ve gebelik sırasında veya immün yetmezlikli hastalarda görülen ekstraintestinal enfeksiyonlarla ilişkili bulunmaktadır. Bu türün gastroenterite neden olduğu bilinse de, bu organizma 42°C'de iyi çoğalamadığı ve genellikle dışkıda kültür için yaygın olarak kullanılan bazı seçici besiyerlerindeki bir antimikrobiyal ajan olan sefalotine duyarlı olduğu için, insidansının muhtemelen olduğundan daha az olarak raporlandığı tahmin edilmektedir. *C. fetus* subsp. *fetus*, virulansı için gerekli olan yüksek molekül ağırlıklı, yüzey tabakasını örten, protein yapıda bir mikrokapsül üretmektedir. *C. fetus* subsp. *venerealis* ise, sığırlarda venereal kampilobakteriyoza neden olup, sığır infertilitesine yol açmakla beraber, nadiren insanlarda da enfeksiyona neden olabilmektedir (110).

C. upsaliensis, insanlarda ishale ve bakteriyemiye neden olan termotoleran bir türdür, ayrıca köpek ve kedi gastroenteritleriyle de ilişkisi bulunmaktadır. Uzun yıllar boyunca kültür için laboratuara gönderilen dışkı numunelerinden izole edilen *C. jejuni*/*coli* dışı türler arasında en yaygın görülen türün *C. upsaliensis* olduğu belirlenmiştir. *C. upsaliensis*, *C. jejuni* için kullanılan selektif besiyerlerinde bulunan birçok antimikrobiyal ajana duyarlı bulunmakta ve bu nedenle genellikle rutinde kullanılan primer izolasyon besiyerlerinden izole edilememektedir. *C. lari* ise, ilk olarak *Larus* cinsi martlardan ve diğer kuş türlerinden, köpeklerden, kedilerden ve tavuklardan izole edilmiş, nalidiksik asite dirençli, termofilik bir türdür. *C. lari*, insanlarda nadir olarak görülmektedir. Bakteriyemili, gastrointestinal ve idrar yolu enfeksiyonu bulunan bazı vakalarda etken olarak tespit edilmiştir. Son filogenetik çalışmalarda *C. lari* subsp. *concheus* ve *C. lari* subsp. *lari*

olmak üzere iki alt türü tanımlamıştır. Diğer *Campylobacter* türleri, çeşitli hastalıkları olan insanların klinik örneklerinden izole edilmekle birlikte, patojenik rolleri henüz tespit edilememiştir (110).

2.2.1.6. Laboratuvar Tanısı

Campylobacter gastroenteriti genel olarak kendi kendini sınırlayan bir hastalık olsa da, genç ve immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (63). *Campylobacter* enfeksiyonlarının tanısı bakterinin yavaş üremesi ve güç izole edilmesi nedeniyle zor olmaktadır. Buna bağlı olarak özellikle kaynakları yetersiz olan bölgelerde tanısı konulamamakta; bu yüzden vakalar ve daha da önemlisi salgınlar atlanabilmektedir (129). *Campylobacter*'in tanımlanması; kompleks ve hızla gelişen sınıflandırması, yavaş üreme ve biyokimyasal özellikleri sebebiyle zor olmaktadır. Bu problemlerin çözülebilmesi için çeşitli fenotipik ve genotipik tanı yöntemleri geliştirilmiştir (110).

Örneklerin Alınması, Toplanması ve Saklanması

Campylobacter cinsi bakteriler daha çok akut gastroenterite sebep oldukları için bu bakterilerin tanısında laboratuvara gönderilen klinik örnek genellikle dışkı örneğidir. Dışkı örnekleri tercih edilmekle birlikte, dışkının alınmasının güç olduğu durumlarda; bebeklerde ve küçük çocuklarda rektal sürüntüler kabul edilebilmektedir. Gastroenteritin akut fazı sırasında ve antibiyotik tedavisi başlatılmadan önce dışkı örneğinin alınıp gönderilmesi tercih edilmektedir (109). *Campylobacter* çevre koşullarına karşı oldukça hassas bir bakteri olduğundan dışkı örneğinin uygun koşullarda taşınması ve saklanması gerekmektedir. Örnek iki saat içinde işleme alınmayacaksa veya rektal sürüntü olarak alınmış ise bakterinin canlı kalmasını sağlayan modifiye Cary-Blair taşıma besiyeri içerisinde gönderilmesi, göndermede bir gecikme olması durumunda taşıma besiyerinin +4°C'de bekletilmesi uygun olmaktadır. Fosfat tamponlu gliserollü taşıma besiyeri *Campylobacter* üzerinde inhibitör etki oluşturduğundan, *Shigella* enfeksiyonu şüphesi varsa bu besiyeri kullanımı önerilmektedir (63). Bakteriyel dışkı örnekleri için kabul edilen standart red kriterleri *Campylobacter* için de uygulanmaktadır (109).

Mikroskobi

Bakteriyel gastroenteritlerde dışkının Gram boya ile incelenmesi uygulanan bir yöntem değildir. Fakat *Campylobacter* için akut dönemdeki seçilen ishalli dışkılardan yapılan Gram boyanın duyarlılığı % 66-94, özgüllüğü ise % 95'in üzerinde saptanmıştır. İnce yapıda olduklarından zıt boya olarak % 1 sıvı bazik fuksin ya da karbol fuksin kullanılması bakterinin daha net görünmesini sağlamaktadır (110). Taze dışkıların ıslak preparatlarında *Campylobacter*'lerin tipik ok gibi fırlar tarzda hareketi incelenebilmektedir (63). Kültür sonucu pozitif olan hastalarda % 25-80 oranında dışkıda lökosit varlığı saptanmıştır. Dışkıda lökosit olması invaziv etkenleri akla getirmekle birlikte dışkıda lökosit saptanmaması bakteriyel enfeksiyonu ekarte ettirmemektedir (110).

Kültür

Mikroskopik incelemenin duyarlılığı düşük olduğundan, antijen testlerinin tanıdaki yeterliliği az veri nedeniyle tam olarak değerlendirilemediğinden ve moleküler yöntemler pahalı olduğundan, halen *Campylobacter* enfeksiyonlarının tanısında kültür altın standart yöntem olarak kullanılmaktadır (63, 110, 129). Ayrıca, dışkı kültürleri hala antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı belirlemek ve salgın durumunda epidemiyolojik analizler için vazgeçilmez bir yöntem olarak önemini korumaktadır (130).

Campylobacter türleri izole edilebilmeleri için birçok farklı kültür ortamına ihtiyaç duymaktadırlar. Farklı sıcaklık ihtiyacı, mikroaerobik koşullar, besin maddeleri ve seçici antibiyotiklere duyarlılık gibi faktörler nedeniyle tanımlanmalarında tek bir standart izolasyon yöntemi bulunmamaktadır. Kültür yapılırken direkt plak yöntemi, zenginleştirme kültürleri ve süzme yöntemi gibi yöntemler kullanılabilmektedir (131).

Dışkı örnekleri çok sayıda bakteri içerdiğinden, kültürde bu bakterileri baskılayan *Campylobacter* üremesini ön plana çıkaran seçici besiyerleri kullanılmaktadır. Bu besiyerlerine defibrine at kanı, kömür, hematin ve ferröz sülfat, sodyum metabisülfit ve sodyum piruvat gibi maddeler ortamda *Campylobacter*'i oksijen türevlerinin toksik etkilerinden korumak için ilave maddeler olarak eklenirler (132). Ayrıca bu besiyerleri normal flora elemanlarını inhibe eden vankomisin, siklohekzimid, trimetoprim, polimiksin B ve rifampisin gibi antibiyotikler ve amfoterisin B gibi antifungaller içermektedirler (133). Ancak *C. jejuni* ve *C. coli*'nin bazı suşları, *C. upsaliensis*, *C. fetus* subsp. *fetus*

besiyerinde bulunan sefalotin, kolistin ve polimiksin B gibi antimikrobiyal ajanlar ile inhibe olabilmektedirler (110, 134). *Campylobacter* üremesini inhibe etmeyen sefoperazon, normal florayı inhibe ettiğinden tercih edilen antibiyotikler içinde yer almaktadır (63).

Besiyerleri kan içerip içermemelerine göre ikiye ayrılmaktadır. Kan içermeyen besiyerleri; CCDA agar, sefoperazon, amfoterisin B ve teikoplanin içeren kömürlü agar (CAT), vankomisin, sefoperazon ve sikloheksimid içeren kömürlü besiyeri (CSM), kan içeren besiyerleri; vankomisin, trimetoprim ve polimiksin B içeren Skirrow besiyeri, kolistin, sefalotin, novobiyosin, basitrasin, aktidion içeren Butzler seçici besiyeri, sefalotin, vankomisin, amfoterisin B, polimiksin B ve trimetoprim içeren Campy BAP (Blaser) besiyeri, sefaperazon, vankomisin ve amfoterisin B içeren Campy CVA besiyeridir (70, 110). Birden fazla seçici besiyerinin bir arada kullanılması izolasyon oranını % 15 arttırmaktadır (63).

Campylobacter cinsi bakteriler üremek için % 5 oksijen (O_2), % 10 karbondioksit (CO_2) ve % 85 nitrojen (N_2)'den oluşan mikroaerobik ortama ihtiyaç duymaktadırlar. Mikroaerobik ortamı oluşturabilmek için ticari olarak üretilen gas pak sistemleri veya anaerop kavanozlarda bulunan gaz muslukları yardımıyla kavanoza gereken oranda gaz karışımının konulduğu "gaz doldurma" yöntemi kullanılabilmektedir. *C. rectus, C. sputorum, C. hyointestinalis, C. concisus, C. mucosalis* ve *C. curvus* gibi türlerin üreyebilmeleri için ortamdaki hidrojen (H_2) konsantrasyonunun yüksek olması gerekmektedir. Ticari gas pak sistemleri az miktarda H_2 oluşturduğundan, bu sistemlerin kullanıldığı durumlarda bu türlerin üretilmesi güç olmaktadır. Bu türlerin üretilebilmeleri için inkübasyon ortamına yaklaşık % 6 H_2, % 10 CO_2 ve dengeli miktarda N_2 gazı eklenmesi gerekmektedir (110).

Campylobacter'lerin türler arası üreme sıcaklıkları farklılık gösterse de büyük bir kısmı 37°C'de üremektedir. *C. jejuni, C. coli, C. lari* ve *C. upsaliensis* insanda enfeksiyon etkeni olan, 42°C'de daha hızlı üreyebilen termotoleran türlerdir. Bu türler arasında en sık izole edilen tür *C. jejuni* olduğundan ve diğer flora bakterilerinin üremesi baskılandığından *Campylobacter* gastroenteritinde laboratuvarlarda daha çok 42°C'lik etüv kullanılmaktadır. Bu sıcaklıkta bakteri izole edilemezse, diğer türlerin enfeksiyon etkeni olabileceği düşünülmekte ve ishal devam ediyorsa hastadan istenen ikinci bir örnek ile kültür

tekrarlanarak 37°C'de inkübasyon yapılmaktadır (111, 135). Ayrıca 48 saat sonunda üreme yoksa inkübasyonu 72 saate uzatmak izolasyon oranını arttırmaktadır (70).

Hastalığın akut döneminden sonra alınan örneklerde, örneğin laboratuvara ulaştırılması geciktiğinde veya GBS araştırılırken gönderilen örneklerde bakteri miktarı az olacağından kültür öncesi zenginleştirme sıvı besiyerlerlerinin kullanımının izolasyon oranını artıracağı bildirilmektedir (63). Bunun için Campy-thio, preston ve *Campylobacter* zenginleştirici buyyondan biri kullanılmaktadır (110). Sıvı besiyeri bir gece 42°C'de inkübe edildikten sonra seçici besiyerine ekim yapılmaktadır (63). Ancak bu yöntemle ilgili yeterli çalışma bulunmadığından yöntemin etkinliği tam olarak bilinmemektedir (63, 110).

Süzme yöntemi, seçici besiyerine ekim ile beraber yapılan tamamlayıcı bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Duyarlılığı az olduğu için bakteri izolasyonunda tek başına yapılması önerilmemektedir (110). Bu yöntem antimikrobiyallere duyarlı olan *Campylobacter* türlerinin izole edilmesinde faydalı olmaktadır. 0,45-0,65 µm çapında porlar içeren steril seluloz asetat filtre kullanılmaktadır. *Campylobacter*'ler ince yapıları ve hızlı hareketleri sayesinde bu porlardan kolaylıkla geçmektedirler. Filtre KKA üzerine konularak 6-8 damla dışkı filtre üzerine damlatılmaktadır. 35-37°C'de 45 dk-1 saat inkübe edilmektedir. Filtre kaldırıldıktan sonra besiyerindeki dışkının ekimi yapılmaktadır. Zor ve yavaş üreyen bakteri varlığını değerlendirebilmek için 35-37°C'de inkübasyon altı güne kadar uzatılmaktadır (63). *Campylobacter* miktarı 10^5 CFU/mL olan dışkılarda bakteri saptanabilmektedir (110).

Kültürde üretilen *Campylobacter* kolonileri genellikle gri, yassı, düzensiz, yaygın ve bazen mukoid olabilmektedirler. Eski olan pasajlarda koloniler gri, yuvarlak, daha az yaygın, parlak olarak görünmektedirler. Kanlı agarda hemoliz yapmazlar. İzole edilen kolonilere öncelikle Gram boya ve oksidaz testi yapılmaktadır. Gram negatif, kıvrık, spiral şeklinde, oksidaz testi pozitif olan koloniler *Campylobacter* spp. olarak bildirilmektedir. Hareket varlığını değerlendirmek için kolonilerden bir öze dolusu alınıp sıvı besiyerinde karıştırılarak lam lamel arası inceleme yapılmaktadır. *Campylobacter*'in ok gibi fırlar tarzda hareketi gözlenmektedir (63). Tür düzeyinde tanımlama yapmak için sonraki aşama hızlı hippurat testidir. Bu testin pozitifliği kolonin *C. jejuni* olduğunu göstermektedir. Ancak bazı *C. jejuni* kökenleri hippurat negatif olabilmektedir. *C. coli*'nin hippurat testi

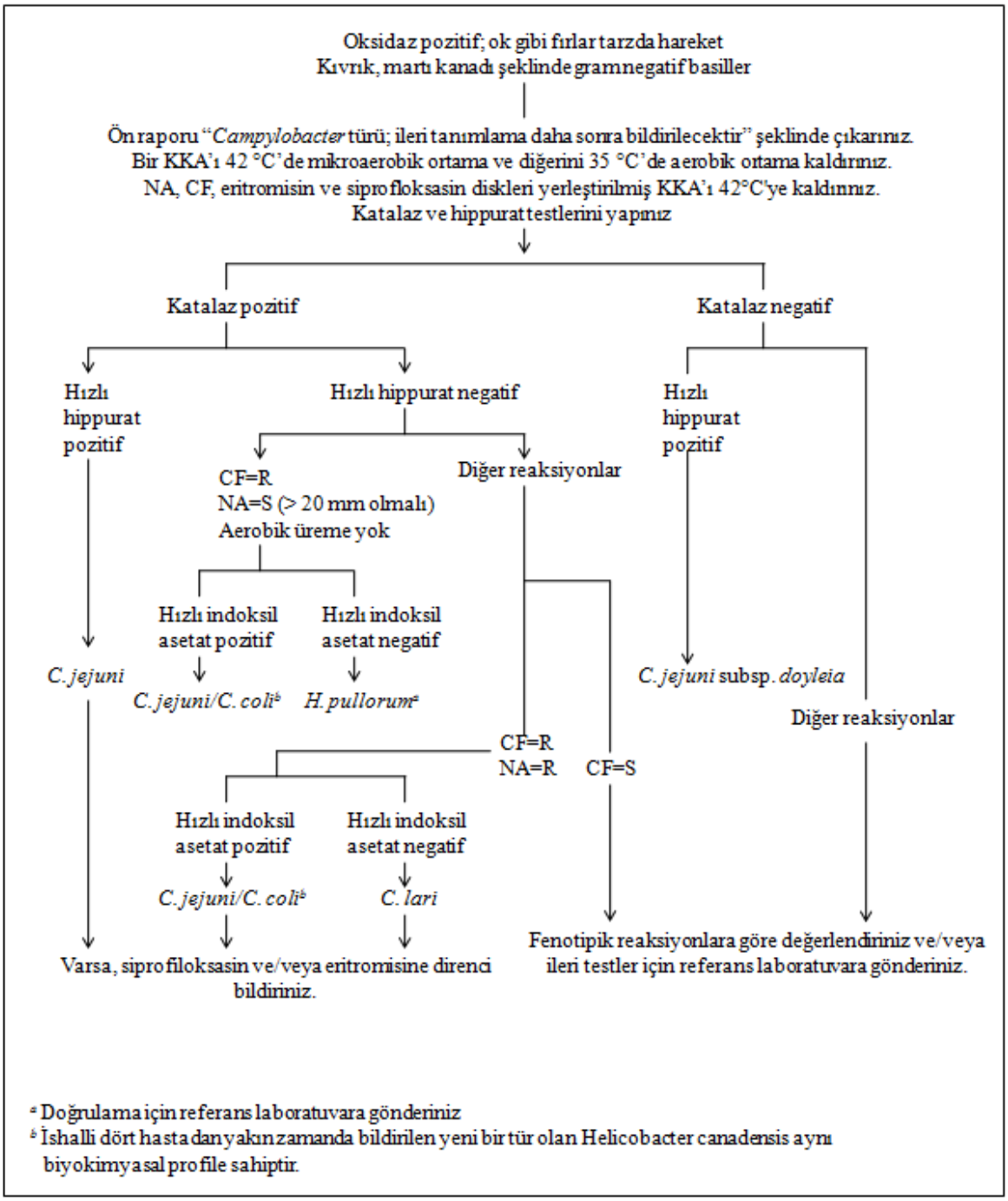
negatiftir ve diğer biyokimyasal özellikleri yönüyle *C. jejuni*'ye benzemektedir. *C. coli*'nin kesin olarak tanımlanabilmesi ve *C. jejuni*'den ayırt edilebilmesi için moleküler yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Sefalotin ve nalidiksik asit direnç ve duyarlılık sonuçlarına göre tür tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Ancak son dönemde gelişen florokinolon direnci sebebiyle disk tanımlama testlerinin güvenilirliği azalmaktadır. Fenotipik yöntemler *C. jejuni* tanısı için iyi olmakla birlikte diğer türlerin tanımlamasında net veri sağlayamamaktadır (110).

Campylobacter tanımlanmasında kullanılan yöntemlerden biri dış membran proteinlerini ya da flagella antijenik epitoplarını saptayan lateks aglütinasyon testidir. *Campylobacter*'lerin izole edildiği besiyerlerinde bulunan diğer bakteriler nedeniyle çapraz reaksiyonlar gelişebilmektedir (136).

Antijen Tespiti

Campylobacter'in kültürde üremesi güç ve zaman alıcı olduğundan, doğrudan dışkı numunelerinde saptanabilen kültür bağımsız teşhis yöntemleri geliştirilerek kültür temelli yöntemlere alternatif olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler hızlıdır ve hastaya aynı gün sonuç verebildiğinden avantajlıdırlar. Ancak, antibiyotik duyarlılık testleri veya epidemiyolojik çalışmalar için bu yöntemlerle izolat elde edilememektedir (109). *Campylobacter* yüzey antijenlerini tespit eden immunassay yöntemleridir ve ticari olarak bulunmaktadırlar. Duyarlılıkları % 80-96, özgüllükleri % 97'nin üzerindedir (110). Bu testlerde *C. upsaliensis*'de çapraz reaksiyon oluşurken diğer *Campylobacter* türlerinde çapraz reaksiyon görülmemektedir. Taşıma besiyerinde olan ya da olmayan dışkılar 2-8°C'de saklanmış ise 72 saate kadar çalışılabilmektedir (63). Dışkı örneklerinden *C. jejuni* tanımlanması için *Campylobacter* tanımlama akış şeması tablo 16'da gösterilmektedir (63).

Tablo 16. Dışkı örneklerinden *C. jejuni* tanımlanması için *Campylobacter* tanımlama akış şeması



Kısaltmalar: R, zon yok; S, zon var; NA: nalidiksik asit, CF: Cefalotin; KKA: koyun kanlı agar.

63 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri

Nükleik asit testleri doğrudan dışkı örneklerinden kültür ile saptanamayan *Campylobacter* türlerini tanımlayabilmektedir (110). Konvansiyonel yöntemler zaman alıcı, izolasyon için özel koşullar ve deneyimli personel gerektiren, iş yükü fazla olan yöntemlerdir. Moleküler yöntemler ise doğrudan dışkıdan tespiti sağlayan, hızlı, iş yükü az olan, geniş patojen yelpazesi olan yöntemlerdir (130). Dışkı örneklerinde enterik bakteriyel patojenleri tespit etmek için birçok yeni moleküler analiz bulunmaktadır. Bu yöntemler spesifiktir ve duyarlılıkları geleneksel yöntemlerinkinden daha üstündür (84, 137). Yapılan bir çalışmada kültür ile bakteri saptama oranı % 3,9 iken PZR yöntemi ile bu oran % 6,2 olarak bulunmuştur (130). Dışkıdaki bakteri yoğunluğu az olduğunda kültürle saptama oranı moleküler yöntemlere oranla çok daha düşüktür (138). Tüm bu avantajlarına rağmen, kültürle antimikrobiyal duyarlılık tespiti ve salgın durumlarında epidemiyolojik çalışmaların yapılabilmesi, moleküler yöntemlerin pahalı olması nedeniyle bu yöntemlerin kullanımı kısıtlıdır (130).

2.2.1.7. Tedavi

Sıvı ve elektrolit replasmanı, ishalli hastalıkların tedavisinde ana unsuru oluşturmaktadır. Ciddi derecede dehidrate olan *Campylobacter* enfeksiyonlu hastaların, intravenöz yolla, su ve elektrolitleri içeren solüsyonlarla, hızlı bir şekilde volüm ekspansiyonuna tabi tutulmaları gerekmektedir. Daha az volüm kaybı olan hastalar için, glukoz ve elektrolit solüsyonları oral yolla kullanılarak rehidrasyon sağlanabilmektedir. *C. jejuni* ile enfekte olan vakaların tamamı değil, bir kısmı tıbbi bakım gerektirecek kadar hasta olmakta ve bir kısmında pozitif dışkı kültürü elde edilmektedir. Bu vakaların da yarısından az bir kısmı için spesifik antimikrobiyal tedavi gerekli olmaktadır. 11 randomize çalışmanın ele alındığı bir metaanalizde, tedavide kullanılan antibiyotiklerin, intestinal semptomların süresini ortalama 1,3 gün kadar kısalttığı belirlenmiştir (111).

Antimikrobiyal tedavinin erken dönemde başlanması, terapötik anlamda oldukça faydalı olacağı için, dışkılardaki organizmaların doğrudan görülmesi yoluyla *Campylobacter* enfeksiyonunun hızlı bir şekilde olası tanısının konulması, klinik açıdan önemlidir. Yüksek ateşi, kanlı ishali olan veya günde sekizden fazla dışkılama yapan hastalarda, tanı konulduğu sırada semptomları azalmamış veya kötüleşen hastalarda veya

semptomların 1 haftadan uzun süre devam ettiği durumlarda, antibiyotik tedavisinin başlanması gerekmektedir (111). *Campylobacter*'lerin *in vitro* olarak; makrolidler, kinolonlar, tetrasiklinler, aminoglikozitler, kloramfenikol, nitrofuranlar ve klindamisin gibi çok çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlı oldukları görülmüştür. Uygulama kolaylığı, ciddi toksik etkilerinin olmaması ve belirgin etkinliği nedeniyle, makrolidler (örn. azitromisin, klaritromisin) genelde tercih edilen ajanlar olmaktadır. İkinci sırada tercih edilen ajanlar ise kinolonlardır (örn. siprofloksasin). Ancak, son 20 yılda siprofloksasine karşı giderek artan bir direnç gelişmiş ve Tayland gibi ülkelerde direnç >% 90, Avrupa'da ise >% 40 gibi oldukça yüksek oranlara ulaşmıştır. Maalesef, makrolidlere dirençli *Campylobacter* suşları da giderek daha fazla oranda görülmekle birlikte, Avrupa'daki makrolid direnci halen % 5'in altında seyretmektedir (103, 111).

2.2.2. *Salmonella* Türleri

2.2.2.1. Tarihçe

Salmonella ilk kez 1885 yılında Theobald Smith ve bakterinin adını aldığı Daniel Elmer Salmon tarafından tanımlanmıştır. Bakteri öncelikle hasta olan domuzlardan izole edilmiş ve hastalığa domuz kolerası, hastalık yapan organizmaya da domuz kolerabasili denilmiştir. Günümüzde aynı organizma için *Salmonella* Cholerasuis (*S.* cholerasuis) adı kullanılmaktadır. 1900 yılında Fransız bilim adamı Joseph Leon Lignieres'in önerisiyle Elmer Salmon onuruna bakteri *Salmonella* adıyla bir cins statüsüne getirilmiştir. 1960'lı yıllarda *Salmonella* ismi dünya genelinde *Enterobacteriaceae* ailesine ait spesifik bir cins olarak kabul edilmiş olup, 1980'de the International Journal of Sistematic Bacteriology dergisindeki Approved Lists of Bacterial Names listesine dahil edilmiştir (139-141).

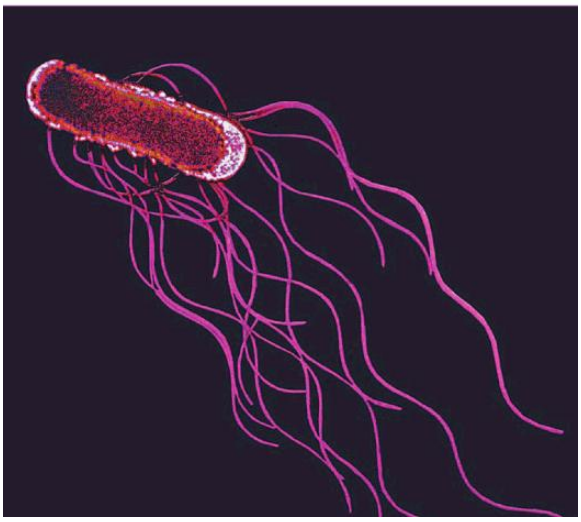
2.2.2.2. Sınıflandırma

Salmonella'nın isimlendirilmesinde değişik sınıflandırılma sistemleri kullanılmıştır. Cins içindeki ilişkileri saptamak için fenotipik, serolojik, genotipik yöntemler kullanılmış ve isimlendirme konusunda yaşanan anlaşmazlıklar nedeniyle *Salmonella*'nın isimlendirilmesi ve sınıflandırılması birçok kez değiştirilmiştir (29). Günümüzde, ilk sınıflandırma sistemlerinden biri olan antijenik yapıya göre sınıflandırma kullanılmaktadır. Kauffmann-White şemasına göre serotiplendirme yapılmaktadır (26). Bu sınıflandırmada bakteri hücresinin lipopolisakkarit tabakasının en dış kısmındaki O somatik antijeni,

flajellanın H antijeni ve kapsüler polisakkarit olan Vi antijeni kullanılmaktadır. *Salmonella* cinsi; *Salmonella enterica* (*S. enterica*) ve *Salmonella bongori* (*S. bongori*) (eski alt tür V) olarak iki alt türden meydana gelmiştir. *S. enterica* altı alt türe ayrılmıştır: *S. enterica* subsp. *enterica* alt tür I, *S. enterica* subsp. *salamae* alt tür II, *S. enterica* subsp. *arizonae* alt tür IIIa, *S. enterica* subsp. *diarizonae* alt tür IIIb, *S. enterica* subsp. *houtenae* alt tür IV, *S. enterica* subsp. *indica* alt tür VI (72).

2.2.2.3. Morfoloji

Salmonella, fakültatif anaerop, 2-5 µm boyunda, 0,7-1,5 µm eninde, sporsuz, kapsülsüz, Gram negatif çomak yapısındadır. *S.* Paratyphi B'nin bazı suşlarında görüldüğü gibi, mukoid yapıda koloniler oluşturan *Salmonella*'larda, az miktarda kapsül bulunabilmektedir. Ek olarak, *S.* Typhi ve nadiren de diğer serotiplere (*S.* Paratyphi A, *S.* Paratyphi C) ait suşlarda, özellikle konak organizmadan yeni izolasyonları yapıldığında, glikolipid özellikte, O somatik antijeninin dışında, bakteri etrafını saran Vi antijeni olarak isimlendirilen kapsüle benzer bir yapı bulunmaktadır. *S.* Gallinorum ve *S.* Pullorum dışındaki serotiplerin tümü peritriş flagelları sayesinde hareketlidirler. Pek çok *Salmonella* suşunda tip 1 (mannoza duyarlı) ve hemaglütinasyon yapan fimbriyalar bulunmakta; *S.* Gallinarum ve başka serotiplere ait çeşitli suşlarda ise tip 2 (mannoza dirençli) fimbriyalar bulunmaktadır. *S.* Paratyphi A ise fimbriyasızdır (135). *Salmonella* spp.'ye ait bir bakteri şekil 2'de gösterilmektedir (141).



Şekil 2. *Salmonella* spp.'ye ait bir bakterinin transmisyon elektron mikroskopisiyle (TEM) çekilen mikrografı (141 numaralı kaynaktan alınmıştır).

2.2.2.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez

Salmonella spp.'ye ait bakterilerin konak adaptasyonlarında, hücre içinde çoğalabilmelerinde, yaşayabilmelerinde ve ekstraintestinal sistemlere yayılımlarında çeşitli genler rol oynamaktadır. Patojen bakterilerin kromozomlarında "patojenite ile ilişkili adacıklar" olarak isimlendirilen bölgelerde bulunan bu genler, bakterilerin virulansını belirleyen çeşitli ürünleri kodlamaktadırlar. *Salmonella*'lar için ise, *Salmonella* patojenite adaları (SPA) bulunmaktadır. SPA'lar, genellikle kromozom üzerinde bulunan 10-200 kilobaz (kb)'lık büyük genomik bölgeler olup, virulans faktörlerini kodlayan çok sayıda gen içermektedirler. Sadece patojen *Salmonella* türlerinde bulunan bu bölgeler, horizontal gen transferiyle patojen olmayan *Salmonella*'lara transfer olduğunda, o bakterilerde de kompleks virulans faktörleri ortaya çıkmaktadır. *Salmonella*'larda tanımlanan en önemli SPA gen kümelerinden bazıları ve fonksiyonları tablo 17'de gösterilmektedir (142).

Tablo 17. *Salmonella* Patojenite Adaları ve Fonksiyonları

PATOJENİTE ADASI	BULUUNDUĞU TÜR/ALT TÜR/ SEROTİP/SEROVAR	BÜYÜKLÜK (kb)	G + C İçeriği (%)	FONKSİYON
SPA-1	*S. enterica* ve *S. bongori*	43	47	T3SS, invazyon, demir alımı
SPA-2	*S. enterica*	40	44,6	T3SS, invazyon, sistemik enfeksiyon
SPA-3	*S. enterica* ve *S. bongori*	17	39,8 - 49,3	Magnezyum alımı, makrofaj içinde sağkalım
SPA-4	*S. enterica* ve *S. bongori*	27	37 – 54	Makrofaj içinde sağkalım
SPA-5	*S. enterica* ve *S. bongori*	7,6	43,6	Enteropatojenisite
SPA-6	*S.enterica* subsp. *enterica* serotipleri	59	51,5	Fimbriya
SPA-7	Typhi, Dublin, Paratyphi serovarları	133	49,7	Vi antijeni
SPA-8	Typhi serotipi	6,8	38,1	Bilinmiyor
SPA-9	*S. enterica* ve *S. bongori*	16,3	56,7	T1SS ve RTX-benzeri toksin
SPA-10	Typhi ve Enteritis serotipleri	32,8	46,6	*S.enteritidis* fimbriya (*Sef*)
SGI-1	Typhimurium (DT104), Paratyphi ve Agona serovarları	43	48,4	Antibiyotik direnci
HPI	*S.enterica* alt tür IIIa, IIIb, IV	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Demir alımına yüksek afinite, septisemi

SPA: *Salmonella* patojenite adası; T3SS: Tip 3 sekresyon sistemi; T1SS: Tip 1 sekresyon sistemi; RTX: Repeats-In-Toxin; SGI: *Salmonella* genomic island; HPI: High pathogenity island.

142 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Salmonella spp.'ye ait çok çeşitli virulans faktörleri bulunmaktadır. Bu faktörler, bakterilerin adezyonu, kolonizasyonu, invazyonu, immün sistemden kaçışı ve toksin üretimi gibi özellikleri sağlamaktadır. Bunlar arasında, yüzey antijenleri, doku invazyonuna neden olan faktörler, endotoksinler, sitotoksinler ve enterotoksinler gibi faktörler bulunmaktadır. *Salmonella* enfeksiyonlarının patogenezinde, bu faktörlerin her birinin fonksiyonu, özel bir serotipin meydana getirdiği enfeksiyon tipine ve enfeksiyonun ortaya çıktığı konak organizmaya göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, *Salmonella* suşları içerisinde, fimbriyalı olanların, fimbriyasızlardan daha virulan oldukları gösterilmiştir. *Salmonella*'lar, değişik canlılarda, farklı enfeksiyon tabloları oluşturabilmektedirler. *S.* Typhimurium serotipinin doğal konağı farelerdir ve bu hayvanlarda klasik tifo tablosu oluşturmaktadır. Ancak, aynı bakteri insanlarda kendi kendini sınırlayabilen bir gastroenterit tablosuna neden olmaktadır. *S. typhi* serotipinin ise sadece insanlarda hastalığa yol açtığı gösterilmiştir. *Salmonella*'lar, fakültatif hücre içi parazitidirler ve dış ortamda da çoğalabilmektedirler. Farklı canlıların, bu enfeksiyon ajanlarına verdikleri yanıtlardaki farklılıklardan, büyük olasılıkla, çeşitli serotiplerin, farklı konak fagositlerinde ve hücre içinde yaşayabilme yeteneklerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (135).

SPA'lar aracılığıyla, *Salmonella* virulansında oldukça önemli rollere sahip bazı bakteriyel sekresyon sistemleri oluşturulmaktadır. Bu sistemler, bakteri hücre duvarı boyunca çeşitli moleküllerin (proteinler, iyonlar, DNA, vb.) taşınmasına izin veren yapılardır. Şu ana kadar yedi farklı bakteri sekresyon sistemi tipi tanımlanmıştır. Bunların üçü (tip 3 sekresyon sistemi (T3SS), T4SS ve T6SS) Gram negatif simbiyotik (mutualistik veya parazitik) bakterilere özgüdür ve etkileşime girdikleri canlıların hücrelerine bakteri bileşiklerinin translokasyonu amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu sistemler, yapı ve etki mekanizmaları açısından farklılık göstermektedirler (143).

T3SS, moleküler enjektör olarak da adlandırılan, temasa bağlı sekresyon veya konak hücreye virulans proteinlerin aktarımından sorumlu bir sistemdir. T3SS, 20'den fazla proteinden oluşmuş kompleks bir yapıdır. Bu proteinlerin organizasyonu enjektör yapısına (iğne kısmı, dış halka, boyun ve iç halka) benzemektedir. Bu sistem, *Salmonella* dışında *Shigella* ve *E. coli*'de de bulunmaktadır. T3SS'nin, T3SS-1 ve T3SS-2 alt tipleri *Salmonella* enfeksiyonları için önem arzetmektedir. *S. enterica* ve *S. bongori* alt türlerinin

her ikisi de T3SS-1'i kodlayan kromozomal operon olan SPA-1'i yapısında bulundurmaktadır. *S. enterica* alt türüne ait tüm patojen bakteriler, ek olarak T3SS-2'yi kodlayan SPA-2'yi taşımaktadırlar. Her iki T3SS de patogenez sırasında konakçı ile etkileşimde rol oynamaktadır. T3SS-1, fagositik olmayan hücrelere invazyonu kolaylaştırmakta, epitel tabakasının geçilmesine katkıda bulunmakta ve intestinal enfeksiyonun başlatılmasından sorumlu tutulmaktadır. T3SS-2 ise çeşitli organlarda bulunan birçok ökaryotik hücre tipinde bakteriyel replikasyon için gereklidir ve sistemik enfeksiyon gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (142, 143).

SPA-1, T3SS için gerekli genlerle birlikte fagositoz yapmayan hücrelerin invazyonundan sorumlu 31 geni de yapısında bulundurmaktadır. T3SS sistemi için gerekli olan proteinler; *invA, invB, invC, invF, invG, hilA, sipA, sipC, sipD, spar, orgA, sopB* ve *sopE* genleri tarafından kodlanmaktadır. InvG, T3SS'nin dış membran proteinidir. Protein sekresyonu ve bakterinin hücre içine alımında kritik rol oynamaktadır. InvA, bir iç membran proteinidir ve polipeptidlerin dışarı atılmasını sağlayan kanalların şekillenmesini sağlamaktadır. InvH ve HilD ise aksesuar proteinlerdir. Bakterinin adezyonunda rol oynamaktadır. T3SS tarafından salgılanan iki protein alt grubu bulunmaktadır. Birinci grupta, T3SS'ye polipeptid sekresyonunu sağlayan proteinler (InvJ ve SpaO) yer almaktadır. İkinci grupta ise konakçı hücre iskelet yapısında değişiklik yaparak bakterinin hücre içine alınmasını sağlayan proteinler (SipB ve SipC) bulunmaktadır. SPA-1 tarafından oluşturulan Inv/Spa proteini makrofaj apoptozundan sorumludur. SipA ise aktin yapılarını bağlayan bir proteindir. SopE de, GTP-bağlayıcı proteinleri aktive etmektedir. SPA-1'de buluan bir diğer gen olan *hilA* ise, transkripsiyonu düzenleyen proteinleri kodlamaktadır. Yapılan moleküler çalışmalarla SPA-1'in, *Salmonella* enfeksiyonlarının hem sistemik (enterik ateş), hem de intestinal (inflamatuar ishaller) fazları için önemli olduğu gösterilmiştir. 43 kb'lık bir büyüklüğe sahip olan SPA-1'in, patojenik bakterilerden horizontal gen transferi ile patojenik olmayan bakterilere de geçebildiği tespit edilmiştir. SPA-2'ye ait genlerden biri olan *spiC*'nin ekspresyonuyla ise, *Salmonella* içeren fagozomların lizozomla birleşmesi engellenmektedir. Bu genin ekspresyonu sistemik enfeksiyon gelişimi için önemlidir, çünkü bakterinin makrofajlar içinde çoğalmasını sağlamaktadır (142).

Salmonella'ların hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerin polisakkarit kısmı O antijenini oluştururken, lipid A kısmı ise endotoksin olarak rol oynamaktadır. Bu endotoksin, canlıda ateş, lökopeni ve ardından lökositoz, hiperglisemi ve sonra hipoglisemi, hipotansiyon ve letal şoka neden olmaktadır. *Salmonella*'ların konak canlının reseptörlerine bağlanması ve hücre içinde yaşayabilmesi O antijeninin yan zincirleriyle ilişkilidir. O yan zincirlerinde bozukluk olan R kolonili suşların avirulan oldukları, S kolonili suşların ise virulan oldukları gösterilmiştir. O antijeninin yan zincirleri serotipleri de belirlemektedir ve belirli serotipler, belirli konaklarda virulandır. İnsanlar için patojen olan önemli bazı serotipler *S.* Typhi, *S.* Paratyphi A, *S.* Paratyphi B, *S.* Typhimurium ve *S.* Cholerasuis'tir. *Salmonella* suşlarının çoğunda, *E. coli*'nin ısıya duyarlı ve dayanıklı toksinlerine benzer yapıda enterotoksinlerin bulunduğu gösterilmiştir. Bu enterotoksinlerden farklı olarak sitotoksin salgıladıkları da tespit edilmiştir. *S.* Cholerasuis ve *S.* Enteritidis serotiplerinin çok fazla sitotoksin salgılayarak enterite neden oldukları, *S.* Typi'nin ise çok az salgıladığı gösterilmiştir (135).

SPA-7, 133 kb'lık en büyük *Salmonella* patojenite adacığıdır. SPA-7, serovar Typhi, Dublin ve Paratyphi C için özgül olmakla birlikte, diğer *S.* Enterica serotiplerinde bulunmamaktadır. SPA-7 tarafından kodlanan en önemli virulans faktörü Vi antijenidir. Vi antijeni kapsüler ekzopolisakkarit yapısında olup, tifo sırasında ateş yükselmesine yol açmaktadır. Vi antijeni taşıyan *S.* Typhi suşlarının daha virulan oldukları tespit edilmiştir. Bu antijen, kompleman faktörlerinden C3'ün bakteri yüzeyine tutunmasını engellemekte, bu yolla fagositozu önlemekte ve böylece serumun bakterisidal etkisini azaltmaktadır. Sonuçta opsonizasyon bozulmakta, nötrofillerin bakterileri fagositozu yavaşlamakta ve bakterilerin makrofaj içine alınarak öldürülmeleri engellenmektedir. Ayrıca, Vi antijeni; makrofaj içine alınan bakterinin, hidrojen peroksitin sitolititik etkisine direnç göstermesine neden olarak, bakterinin hücre içinde canlılığını sürdürmesine olanak sağlamaktadır (135, 142).

Çok sayıda *Salmonella* serotipinin, hücre dışı matriks üretimi yaparak bir biyofilm yapısı oluşturduğu gösterilmiştir. Tüm *S.* Typhimurium ve *S.* Enteritidis bakterileri fimbriyal bileşenleri ve oluşturdukları matriks içerikleriyle, çok hücreli yapıda bir davranış sergilemektedirler. Biyofilmler, *Salmonella*'ların tutunma özelliklerini artırıcı yönde etki etmektedirler. Örneğin, *S.* Typhi serotiplerinin safra kesesi taşları üzerine tutunma

yeteneğinde olduğu gösterilmiştir. Tutunma özellikleri incelendiğinde, ağız yoluyla bulaşan ve karaciğer yoluyla safra kesesine geçen bu bakterilerin, safra içerisinde çoğalarak biyofilm yapısı oluşturdukları ve safra içerisinde bulunan kolesterolün, *Salmonella*'ların biyofilm oluşturma yeteneklerini arttırdığı tespit edilmiştir (144, 145).

Salmonella'lar, konak canlıdan kendileri için esansiyel olan demiri elde edebilmek amacıyla enterobaktin ve aerobaktin adında iki tip siderofor sentezlemektedirler. *S. enterica* serotiplerinde görülen siderofor sentezi, genellikle *iro*A, *iro*N ve *iro*BCDE gen bölgeleriyle kontrol edilmektedir. Örneğin, dış membran reseptörleri olan IroN, Fur, Cir ve FepA; dış membran siderofor reseptör proteinleri aracılığıyla çeşitli tiplerdeki taşıma sistemlerine katılmakta ve enterobaktin moleküllerini üretmektedir. Oluşan sideroforlar, çeşitli mekanizmalarla, patojen *Salmonella*'ların virulansını artırmaktadır (135, 146, 147).

Salmonella'ların virulans faktörlerinden bazıları *spv* (*Salmonella* virulans plazmiti) denilen ve virulans plazmitlerinde bulunan genlerden köken almaktadır. *spv*B ve *spv*C genlerinin, plazmit aracılı virulans için temel faktörler olduğu gösterilmiştir. *spv*B'nin, konak hücre sitotoksisitesi ile ilişkili olduğu, bakterilerin makrofajlar içinde canlı kalmasını sağlamak amacıyla ADP-ribozil-transferaz ürettiği ve bu yolla, hücre iskeletinin yapısını bozduğu tespit edilmiştir. *Spv*C proteininin ise fosfotreonin liyaz aktivitesi ile konak canlının MAP (Mitogen Activated Protein) kinaz aktivitesini geri dönüşümsüz bir biçimde durdurduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *spv* genlerinin; *Salmonella* bakterilerinin karaciğerde çoğalmaları için önemli rol oynadıkları gösterilmiştir (148).

"Alternatif Sigma Faktör (σ^S) Regülatörü" (RpoS), *spv* genlerinin ekspresyonundan sorumludur. RpoS, *Salmonella* türlerinin en önemli virulans faktörlerinden biri olup, besin yokluğu veya kısıtlaması ile pH ve sıcaklık değişimleri gibi faktörlere maruz kaldığı zaman, bakterinin bu olumsuz koşullara dayanmasını ve canlı kalmasını sağlamaktadır. RpoS, *S.* serovar Typhimurium'un derin organ bölgelerinde çoğalabilmesini kontrol eden *spvRABCD* plazmid genlerinin ekspresyonuyla da ilgilidir. Bu faktör ayrıca, bakterilerin Peyer plaklarında kolonizasyonları için gerekli olan kromozomal genlerin fonksiyonlarını da düzenlemektedir (142).

Salmonella enfeksiyonları, kontamine gıda veya sulardaki bakterilerin sindirim sistemine alımı ile başlamaktadır. Bu bakteriler mide asidine duyarlıdırlar ve gastrik

asidite, *Salmonella* kolonizasyonunu engellemede ilk bariyeri oluşturmaktadır. Gastrik pH'yı artıran koşullar, enfeksiyona duyarlılığı önemli ölçüde artırmaktadır. Ayrıca, ağız yoluyla alınan bakteri sayısı da enfeksiyon gelişimi için önemlidir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan araştırmalarda hastalık oluşturmak için gerekli bakteri sayısı yaklaşık 10^6 olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, salgınların görüldüğü yerlerde yapılan araştırmalarda, 200 gibi az sayıda bakteriye maruz kalınmasıyla da çoğunluğu nontifoidal gastroenterit olan vakaların oluşabildiği gösterilmiştir (149). *Salmonella* enfeksiyonlarını kolaylaştıran bakteriye ve konağa ait özellikler tablo 18'de gösterilmiştir (26).

Tablo 18. *Salmonella* enfeksiyonlarını kolaylaştıran bakteriye ve konağa ait özellikler

BAKTERİ	KONAK
Alınan Bakteri Sayısı	**Yaş** • Yenidoğan • Yaşlılık
Konağa Özgü Serotip Olma	**Hücresel Bağışıklık** • AIDS • Organ transplantasyonu • Lenfoproliferatif hastalık
Makrofajlar İçinde Yaşayabilme • Makropinositoz indüksiyonu • Gecikmiş lizozomal füzyon • Attenüe fagozom asidifikasyonu	**Fagositik Fonksiyon** • Hemoglobinopatiler • Kronik granülomatöz hastalık • Bartonelloz • Malarya • Yaygın histoplasmoz • Schistozomiyaz
Mukus Tabaka Penetrasyonu • Hareket	**Mide Asiti** • Antiasitler • Aklorhidri • Mide ameliyatı
Katyonik Protein Direnci • Defensinler	**Bağırsak Florası** • Antibiyotik kullanımı • Barsak ameliyatı
Safra Tuzlarına Direnç	**Mukoza Düzeni** • İnflamatuvar bağırsak hastalığı • Gastrointestinal kanserler
Mukozaya İnvazyon	
Diğer Faktörler • Çeşitli düzenleyici proteinler • Virulans plazmidleri • Yüzey molekülleri (LPS, Vi antijeni) • Sitotoksinler • Demir kapan moleküller (ör. aerobaktin ve enterobaktin gibi sideroforlar) • Stres cevabı • Pürin sentezi	

26 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

İnce bağırsağa geçebilen *Salmonella*'ların üremeleri safra ve peptonlu maddeler içerisinde kolaylaşmaktadır. Gelişen enfeksiyon tipi, alınan bakteri sayısının yanı sıra, *Salmonella* serotipine, alınan suşun virulansına ve konak organizmanın savunmasına bağlı olarak değişmektedir. *Salmonella*'lar, AIDS gibi immün yetmezliği bulunan kişilerde virulanslarının artmasıyla, sepsis gibi ağır klinik tablolara yol açabilmektedirler. İmmün yetmezlikli hastalarda *Salmonella* enfeksiyonları, toplumun geneline göre daha sık görülmekte ve daha ağır seyretmektedir (135).

İleumda epitel hücrelerine tutunan *Salmonella*'lar, hücre penetrasyonuna, lokal lökosit infiltrasyonuna, konjesyon ve ödemle seyreden inflamasyon tablosuna yol açmaktadırlar. Bu bakteriler, mukoza invazyonuyla ve inflamasyonla, kanlı ve mukuslu dışkılamaya neden olabilmektedirler. Enterotoksin salgılanan durumlarda ise, ince bağırsaklarda sekretuvar, sulu dışkılama görülebilmektedir. *Salmonella*'lar, ince bağırsaklardaki mukus bariyerini aşıp, enterositlere ve Peyer plakları hizasında özelleşmiş epitel hücrelerine ulaştıklarında, yapılarında bulundurdukları virulans faktörleriyle hücre içine girebilmektedirler. Peyer plaklarında makrofajlar içine alındıklarında hücre içinde çoğalmaya devam etmektedirler. Makrofajlar içinde mezenterik lenf nodlarına gelen *Salmonella*'lar, burada çoğalmakta ve duktus torasikus yoluyla kana karışmaktadırlar. Kana geçen bakteriler, karaciğer, kemik iliği ve dalak makrofajları tarafından tutulmakta, ayrıca buralarda çoğalmaya devam etmektedirler. Bu bölgelerden yeniden kana karışan bakteriler kan dolaşımıyla, safra kesesi dahil olmak üzere, bütün doku ve organlara ulaşmaktadırlar. Bu durumların ortaya çıkmasında, *Salmonella*'ların yüzey molekülleri (lipopolisakkarit somatik antijeni ve Vi antijeni), demir taşıma sistemleri (sideroforları: aerobaktin, enterobaktin) ve sitotoksinleri gibi virulans faktörleri etkili olmaktadır (26).

Enterokolit şeklinde seyreden *Salmonella* enfeksiyonlarında, bakterilerin enterotoksin ve sitotoksinlerinin etkisiyle ve endotoksin etkisinin de olaya eklenmesiyle, bağırsaklarda inflamasyon, doku nekrozu ve bunlara bağlı ateş, kanlı ishal ve kolit gelişebilmektedir. *S.* Typhi'nin ise ekzotoksini bulunmamaktadır. Bununla birlikte LPS'nin endotoksik aktivitesi nedeniyle, çok sayıda sistemik belirtiye yol açabilmektedir (135).

2.2.2.5. Klinik ve Epidemiyoloji

Salmonella farklı klinik tablolar ile karşımıza çıkmaktadır. Bunlar; gastroenterit, tifo ya da paratifo, septisemi, taşıyıcılık olarak sıralanabilmektedir. Gastroenterit en sık ortaya çıkan klinik tablodur (26). Kontamine su ve gıda alımıyla ilişkilidir (149). *S.* Typimirium ve *S.* Enteritidis insanlardaki en sık etkenlerdir. Kuluçka süresi 2- 48 saattir. Bulantı, kusma, hafif ya da şiddetli karın ağrısı, baş ağrısı, hafif sulu ishalden ağır ishale kadar değişen semptomlarla karakterizedir. Günde 6-10 kez dışkılama olmaktadır. Kanlı ve mukuslu dışkı az görülmektedir (26). Dışkının mikroskobik incelemesinde nötrofil ve daha nadir olarak eritrosit görülmektedir (149). Hastaların yarısında kısa süreli ortaya çıkan ateş meydana gelmektedir. Uzun süren ateş sepsisi düşündürmektedir. Hastalık 2-5 günde kendiliğinden düzelmektedir. İrritabl kolon sendromu gelişirse hastalık iki haftadan uzun sürmektedir (26). Gastroenterit sonrasında dışkıda *Salmonella* taşıma süresi ortalama 4-5 hafta arasında ve *Salmonella* serotipine göre değişmektedir. Antimikrobik tedavi, taşıma süresini uzatabilmektedir. Buna ek olarak, yenidoğanlarda taşınma uzun sürmektedir. Bir çalışmada, yenidoğanların % 50'sinde 6. ayda dışkılarında halen *Salmonella* atıldığı tespit edilmiştir. Ancak yenidoğanlarda kalıcı olarak taşınma olmamaktadır (149). *Salmonella* enfeksiyonlarına ait özellikler tablo 19'da gösterilmektedir (26).

Tablo 19. *Salmonella* enfeksiyonlarına ait özellikler

KlinikTablo	Gastroenterit	Tifo-Paratifo	Sepsis ve Lokal Organ Enfeksiyonlrı
Kuluçka süresi	2 - 48 saat	7 - 21 gün (ortalama 10 - 14 gün)	Değişir
Başlangıç	Ani	Gizli, sinsi	Ani, gürültülü
Ateş	Genellikle düşüktür	Yavaş yavaş yükslir, plato çizer, 4. haftada hızla düşer	Hızlı yükselir, tipik septik ateş
Hastalığın süresi	Genellikle 2 - 5 gün	Birkaç hafta (Tipik olarak dört dönem)	Değişir
Gastrointestinal belirtiler	Başlangıçtan itibaren bulantı, kusma	Önce kabızlık, sonra orta derecede ishal	Belirtisiz
Kan kültürleri	Negatif	1. ve 2. haftada pozitiftir	Yüksek ateş süresince pozitif
Dışkı kültürleri	Başlangıçtan itibaren pozitif	Hastalığın erken döneminde negatif; 2. haftadan itibaren pozitif	Nadiren pozitif

26 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Tifo ve paratifo tablosu *S.* Typhi, *S.* Paratyphi A-B-C tarafından, daha nadir olarak da diğer serotipler tarafından oluşturulmaktadır (26). *S.* Typhi'nin oluşturduğu hastalığa tifo, diğer serotiplerin yaptığına paratifo denmektedir (135). Tifo, paratifonun klinik olarak daha ağır seyirli formudur (26). Alınan bakteri sayısı, bakterinin özellikleri ve konağın durumuna göre kuluçka süresi 7-21 gün arasında değişmekte, ortalama 10-14 gün sürmektedir. İnsandan insana ya da kontamine gıda veya su ile yayılım olmaktadır (149). Tifo; yükselme, yerleşme, açılma, iyileşme dönemlerinden oluşmaktadır (26). Tedavi edilmeyen olgularda süreç dört haftaya kadar uzayabilmektedir (150). İlk hafta hafif ateş, halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı gibi semptomlarla başlamaktadır. Ateş giderek yükselir ve birinci haftanın sonunda 39°C'ye ulaşmaktadır (26). Akşam ateşi daha yüksek görülmekle birlikte, sabah ateşiyle arasında 0,5-1°C fark bulunmaktadır (135). Karın ağrısı, kabızlık, iştahsızlık, relatif bradikardi ve dalak büyümesi görülmektedir. İkinci hafta ateş yüksek ve sabit bir şekilde devam etmektedir. Relatif bradikardi belirginleşmektedir. Ateş yüksek olduğu halde nabız düşük seyretmektedir. Bu duruma diskordans denilmektedir. Hastanın gövdesinde ciltten hafif kabarık, basmakla solan "roseol" adı verilen döküntüler oluşmaktadır. Hastaların çoğunda kabızlık görülmektedir (26). AIDS olanlarda ve çocuklarda genellikle ishal görülmektedir (150). Hepatosplenomegali oluşmaktadır. Hastada bilinç bulanıklığı, daha ağır durumlarda ajitasyon ve deliryum gözlenebilmektedir. Üçüncü haftada ilk günlerde ateş yüksek seyir göstermekte, son günlerde hızlıca düşmektedir. Dördüncü hafta sonunda ateş tamamen düşmekte, semptomlar kaybolmakta ve hasta iyileşmektedir. Erken dönemde antibiyotik tedavisi başlanırsa hastalık daha hafif seyretmektedir (26). Antibiyotiğin kullanılmadığı dönemlerde tifoya bağlı ölümler % 15 civarındayken, günümüzde bu oran % 1'in altına düşmüştür. Artmış mortalite ilaca dirençli suş ve gecikmiş antimikrobiyal tedavi ile ilişkili olmaktadır (149). Tifoda daha çok olmakla birlikte, çeşitli komplikasyonlar oluşabilmekte ve en sık hastalığın ikinci ya da üçüncü haftasında ortaya çıkmaktadırlar (26, 72). Komplikasyonlara bağlı ölüm nadir görülmektedir (26). En yaygın gastrointestinal komplikasyon olarak kanama görülmektedir (150). Bağırsak perforayonu, karaciğer ve dalak apseleri, perikardit, miyokardit, orşit, artrit, kolanjit, kolesistit ve yumuşak doku enfeksiyonları komplikasyonları arasında yer almaktadır (26). Kan testi bulguları; nötropeni, lenfopeni, trombositopeni, artmış C-reaktif protein (CRP) ve artmış eritrosit sedimantasyon hızı şeklindedir. Lökositoz daha az sıklıkta

görülmektedir. Bazı hastalarda anormal karaciğer fonksiyon testleri gözlenebilmektedir (150).

Salmonella; serotipi, virulans özellikleri ve konağın durumuna göre kana geçerek septisemi ve çeşitli organlara yerleşerek enfeksiyonlara neden olmaktadır. En sık *S.* Paratyphi C, *S.* Cholerasuis, *S.* Typimirium ve *S.* Enteritidis bu enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Ateş, üşüme, titreme, bulantı, kusma, myalji, bilinç bulanıklığı ve enfeksiyonun bulunduğu organ bulguları ortaya çıkmaktadır. Taşıyıcılık geçici, kronik ve sağlam taşıyıcılığı şeklinde görülebilmektedir. *Salmonella* enfeksiyonunu geçiren ama bilinmeyen kişilerde sağlam taşıyıcılığı, semptomlarla enfeksiyonu geçirenlerde geçici ya da kronik taşıyıcılık ortaya çıkmaktadır. Kronik taşıyıcılıkta idrar ve dışkıyla bir yıldan uzun süre bakteri atılımı olmaktadır. Bir yıldan kısa sürmesi geçici taşıyıcılığı göstermektedir. *S.* Typhi ile % 2-5 hastada, diğer serotiplerle ortaya çıkan paratifoda % 0,2-0,6 kronik taşıyıcılık ortaya çıkmaktadır (26). Taşıyıcılık kadınlarda, bebeklerde, yaşlılarda ve kolelitiyazisi olanlarda daha sık görülme eğilimi göstermektedir (150).

Salmonella spp. ile ilişkili enfeksiyonların epidemiyolojisi türe bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *S.* Typhi ve *S.* Paratyphi'nin neden olduğu enterik ateş genelde gelişmemiş toplumları etkileyen, ciddi ve yaşamı tehdit eden bir hastalığa neden olurken, non-typhoidal *Salmonella* enfeksiyonları kendi kendini sınırlandırmakla birlikte dünyayı etkilemektedirler (150).

Tablo 20. Tifoid ve Non-Tifoid *Salmonella* enfeksiyonlarının karşılaştırılması

ÖZELLİKLER	**Tifoid *Salmonella***	**Non-Tifoid *Salmonella***
Serotipler	*S.* Typhi, *S.* Paratyphi	Diğer suşlar
Rezervuar	İnsanlar	Hayvanlar
Bulaşma yolu	Daha çok sularla	Daha çok gıdalarla
Bölge	Gelişmekte olan ülkeler	Dünya genelinde
Hastalık	Sistemik	Lokal veya sistemik
HIV Enfeksiyon Riski	Yüksek risk yok	Artmış risk
Taşıyıcılık Oranı	% 1-4	< % 1

150 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Enterik ateşin dünya genelinde düşük gelirli ülkelerde yılda 200.000 ölüm ve yılda 22 milyon hastalığa neden olduğu tahmin edilmektedir. Ancak, enterik ateş insidansı,

ülkeler arasında büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Güney ve Güneydoğu Asya'da yüksek insidans (yılda 100.000'de 100 kişiden fazla vaka); Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda ve Kuzey Amerika bölgelerinde düşük insidans (yılda 100.000'de 10 kişiden az) bildirilmektedir. ABD'de *S.* Typhi enfeksiyonlarının görülme sıklığı düşüktür (yılda 400 kişi) ve çoğu seyahat ile ilişkili olarak meydana gelmektedir. İngiltere ve Kanada'da oran düşüktür ve çoğu Hindistan veya Pakistan'dan ithal edilmektedir (150). *S.* Typhi ve *S.* Paratyphi'nin rezervuarı insandır. Bulaşma, hastanın veya taşıyıcının dışkısıyla kontamine olmuş su ve gıdaların alımıyla olmaktadır (151). Endemik bölgelerde enterik ateş vakaları genellikle bebeklerde, okul öncesi ve okul çağındaki çocuklarda erişkinlere göre daha sık görülmektedir (150).

Non-typhoidal *Salmonella* (NTS) enfeksiyonları gelişmiş ve az gelişmiş ülkelerde nüfusun sağlığı üzerinde önemli bir yük oluşturmaya devam etmektedir. *Salmonella* spp. nedeniyle 93,8 milyon gastroenterit vakası ve buna bağlı 155.000 ölüm olduğu tahmin edilmektedir (152). Avrupa'da NTS ile ilişkili hastalıkların görülme sıklığı yılda 100.000 kişide 690, ABD'de 100.000 kişide 17,6 olarak saptanmıştır. Dünyadaki en yaygın serotip *S.* Enteritidis (izolatların% 65'i), bunu takiben *S.* Typhimurium (% 12) ve *S.* Newport (% 4) görülmektedir. NTS gıda kaynaklı bakteriyel patojenler içinde 65 yaş üstü hastalar için önemli bir mortalite (% 39) sebebi olmaktadır. Beş yaş altı çocuklarda 100.000'de 69,5 enfeksiyon oranıyla yüksek bir insidansa sahip olduğu görülmektedir (150). NTS için rezervuar hayvanlardır ve birçok salgının kaynağını oluşturmaktadırlar. Salgınların en yaygın kaynakları yumurtalar ve kümes hayvanlarıdır ancak domuz eti, sığır eti, meyve, sebze ve süt ürünleri de rol oynamaktadır. Endemik olan yerlerde *Salmonella* yaz ve sonbahar döneminde sık görülmektedir (26).

Ülkemizde *Salmonella* spp. bakteriyel etkenler içinde ilk sırada yer almakta ve yılda 2.000-3.500 vakanın Sağlık Bakanlığı'na bildirimi yapılmaktadır. Son dönemde tifo vakalarına eskiye göre daha az rastlanmaktadır. Ancak *Salmonella*'nın hem tanı aşamasında, hem de bildirimlerinde laboratuvarlarla ilgili sıkıntılar yaşandığından ülkemizle ilgili net veriler bulunmamaktadır (153).

2.2.2.6. Laboratuvar Tanısı

Akut ishal ile hastaneye gelen tüm hastaların dışkı örneklerine *Salmonella* tanısı için gerekli olan tekniklerin uygulanması gerekmektedir. Çünkü *Salmonella,* hastane enfeksiyonlarına, salgınlara, immün sistemi zayıf hastalarda bakteriyemiye neden olmaktadır (153). Konvansiyonel mikrobiyolojik tanımlama ve serolojik tiplendirme, *Salmonella* tanısının esas basamaklarını oluşturmaktadır (150). *Salmonella* tanısında biyokimyasal testler ve özgül antiserumlarla serogrup tayini beraber yapılmaktadır (63). Sadece biyokimyasal testler ya da sadece serogrup belirlenerek verilen sonuçlar geçerli kabul edilmemektedir. İleri düzey tiplendirme laboratuvarda yapılamıyorsa, örnekler referans laboratuvara gönderilmektedir (153). *Salmonella* tiplendirilmesinde fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılmaktadır ve bu tiplendirme epidemiyolojik olarak veri toplanabilmesi, salgınların değerlendirilmesi ve uluslararası bir dil oluşturabilmek için gerekmekte ve yapılmaktadır (154).

Örneklerin Alınması, Toplanması ve Saklanması

Tifo veya paratifo düşünülen hastalardan laboratuvara kan, kemik iliği, safra, idrar ve dışkı örnekleri gönderilmektedir. İlk iki hafta kanda, ikinci haftadan sonra idrarda ve dışkıda bakteri bulunmaktadır. Taşıyıcıları saptamak için dördüncü haftadan sonra dışkı ve safra örnekleri alınmaktadır. BOS (beyin omurilik sıvısı), periton ve plevra sıvısı, apse, eklem gibi bölgelerden bakteri varlığına göre örnek gönderilebilmektedir. Gastroenteritli hastalardan ilk günden itibaren dışkı örneği gönderilmektedir (26). Dışkı alınamayan hastalardan rektal sürüntü örneği kabul edilmektedir (153). Örneklerin ideal olarak antibiyotik başlanmadan önce toplanması gerekmektedir (29). Dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin laboratuvara ulaştırılması iki saati geçecek ise örnek Cary-Blair taşıma besiyerine alınıp, +4°C'de 48 saat bekletilebilmektedir. Taşıma süresi 48 saati aşacaksa örneklerin -70°C'de saklanması uygun olmaktadır (153). Bakteriyel dışkı örnekleri için kabul edilen standart red kriterleri *Salmonella* için de uygulanmaktadır (63).

Mikroskopi

Mikroskobik incelemeler *Salmonella* tanısında yararlı olmaktadır (149). Dışkıda lökosit olmaması enfeksiyon olmadığını göstermezken, lökosit görülmesi invaziv enfeksiyonu düşündürmektedir (153).

Kültür

Kültür tanıda altın standarttır. Kültürün sonuçlarını; örneğin hastalığın hangi döneminde alındığı, nerden alındığı, örnek verirken hastanın ne kadar uyumlu olduğu, hastanın daha öncesinde antibiyotik kullanmış olması, gönderilen örnekteki bakteri yoğunluğu gibi birçok faktör etkilemektedir (153).

Kültür öncesinde zenginleştirme sıvı besiyerlerinin sadece gıda sektörü ve bakım merkezleri gibi yerlerde çalışan temaslı veya taşıyıcı personelin dışkı örneklerindeki az miktarda bakteriyi saptayabilmek için uygulanması önerilmektedir. Bunun için Selenit-F, tetrathionat broth ya da GN zenginleştirme besiyeri kullanılmaktadır. Örnek laboratuvara ulaştıktan sonra, önce zenginleştirme besiyerlerine alınarak 37°C'de inkübe edilmektedir. İnkübasyon gereğinden fazla uzatılırsa, dışkıdaki diğer bakterilerin de miktarı artmaktadır. Zenginleştirme yapıldıktan sonra örnekler seçici besiyerlerine ekilmektedir (63).

Salmonella tanısı için dışkı kültürü yapılırken dışkının yoğun bakteri içeriğinden dolayı seçici besiyerleri kullanılmaktadır. MAC agar, Endo agar, EMB agar düşük seçici özelliktedir ve laktoza olan etkilerine göre bakterileri ayırmaktadırlar. Bunlardan birinin kullanılması yeterli olmaktadır. Bu besiyerlerine az miktarda dışkı ile tek koloni elde edilecek şekilde ekim yapılmaktadır (66). İkinci bir besiyeri olarak da orta seçicilikte olan HEK agar, XLD agar, SS agar, Dezoksikolat sitrat agar (DCA), *S.* Typhi için yüksek seçici özellikte olan bismuth sulfite agar ve brilliant green agar kullanılmaktadır (72). Bu besiyerleri inhibitör madde içerdiklerinden bakteriyi üretebilmek için dışkıdan büyük miktarlarda alınarak yoğun bir şekilde ekim yapılmaktadır. Ekilen besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmektedir (63, 66). İnkübasyon sonrası *Salmonella* MAC, EMB ve Endo agarda laktozu fermente etmediği için renksiz olarak görünmektedir. HEK agarda yeşil ya da mavi ve siyah merkezli, XLD agarda kırmızı ve siyah merkezli, SS agarda renksiz ya da yarı saydam ve siyah merkezli olarak, bismuth sulfite agarda yeşil ya da siyah, brilliant green agarda kırmızı görünmektedir (63).

Fenotipik tiplendirme

Serotiplendirme, biyotiplendirme, faj tiplendirme, kolisin tipi ve antimikrobiyal duyarlılık testi, fenotipik tiplendirme yöntemlerini oluşturmaktadır (155). Serotiplendirme sıklıkla kullanılmakta ve salgınlardaki izolatların epidemiyolojik olarak izlenmesinde değerli olduğu çalışmalarda gösterilmektedir. Bu yöntemle tespit edilen 2.500'den fazla serotip bulunmaktadır (29).

Biyokimyasal Testler

Besiyerinde üreyen kolonilere biyokimyasal testler uygulanmakta ve O grup antiserumlarıyla serogrup belirlenmektedir. Bu testlerden biriyle pozitif sonuç alındığında kliniğe olası *Salmonella* ön raporu verilmektedir. İki test tamamlanarak her ikisinden de pozitif sonuç alındığında rapor *Salmonella* olarak doğrulanmaktadır (72). Biyokimyasal özelliklerin değerlendirilmesinde TSI, LIA ve üre besiyeri yeterli olmaktadır. Ancak bu besiyerleriyle tanımlama yapılamazsa diğer besiyerleri de kullanılmaktadır. *Salmonella*'nın biyokimyasal özellikleri; laktoz (-), glukoz (+), H_2S (+), sitrat (+), lizin dekarboksilaz (+), üre (-), motilite (+), indol (-) şeklindedir (63).

Serotiplendirme

Biyokimyasal testlerden sonra serotiplendirme basamağında O antiserumları kullanılarak serogrupların belirlenmesiyle tanı *Salmonella* olarak doğrulanmaktadır (72). İleri düzeyde serotiplendirme yapılması epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır. Ancak serotiplendirme uzun zaman, deneyimli personel, fazla miktarda antiserum gerektiren pahalı bir yöntem olduğundan genellikle referans laboratuvarlarda yapılabilmektedir (154). Serotiplendirme bakterinin O, H, Vi antijenleri kullanılarak yapılmaktadır. Kauffmann-White şemasındaki antijenik formüller ile tanımlanmaktadırlar (29). O somatik antijenleri polisakkarit yapıda, ısıya dirençli, bir ya da birden fazla sayıda ve bakterinin hücre duvarında bulunmaktadır. O antijenleri sayılarla ifade edilmekte ve başka bakterilerde de bulunabilmektedir. H flagellar antijeni protein yapıdadır. Faz 1 ve Faz 2 antijenleri olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Faz 1 antijenleri *Salmonella* için özgül ve değişmezken, Faz 2 antijenleri birçok *Salmonella*'da bulunabilen ve üreme esnasında değişebilen özelliktedir. Faz 1 antijenleri sayı ile, Faz 2 antijenleri sayı ve harf ile ifade edilmektedir (156). Typhi ve Enteritidis'de tek flagellar antijen bulunmaktadır. Bunların haricindeki *Salmonella*'larda

genellikle Faz 1 ve Faz 2 antijenleri beraber bulunmaktadır. Vi antijeni, O somatik antijenini dıştan örten, ısıya duyarlı kapsüler antijendir. *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi C, *Salmonella* Dublin ve bazı *Citrobacter*'lerde bulunmaktadır (72). Vi antijeni serovar Typhi'nin saptanması için yararlı olmasına rağmen, *Citrobacter* spp.'de de bulunduğundan dolayı tek başına Vi antijeni kesin tanımlama için kullanılmamaktadır (29).

Serotipleme yapılırken öncelikle çoklu O antijenlerini içeren polivalan O antiserumları kullanılmaktadır. Daha sonra tekli O antijenleri kullanılarak lam aglütinasyonla serogrup tayini yapılmaktadır. Eğer aglütinasyon gerçekleşmediyse *Salmonella* Typhi veya *Salmonella* Paratyphi C olma ihtimali düşünülerek, anti Vi antiserumu ile aglütinasyon yapılmaktadır. Aglütinasyon olduysa bakteri süspansiyonu bir saat 60°C'de ısıtılarak O antiserumları ile işlem tekrarlanmaktadır. Aglütinasyon olursa, bakteri *Salmonella* Typhi ya da *Salmonella* Paratyphi C'dir. Eğer aglütinasyon olmazsa anti Vi antiserumu tekrar kullanılmakta ve çökme olmazsa bakterinin *Salmonella* olmadığı anlaşılmaktadır (156). H antijenleri tüp veya lam aglütinasyon yöntemi ile bakılmaktadır. Önce polivalan, daha sonra monovalan antiserumlar kullanılarak testler yapılmaktadır. *Salmonella* Paratyphi A; H_2S, lizin ve sitrat negatiftir. *Salmonella* Paratyphi C ve *Salmonella* Choleraesuis aynı antijenik formüle sahiptir, ancak biyokimyasal özellikleri farklıdır. Tüm bu durumlar serotiplendirmenin ve biyokimyasal testlerin beraber yapılması gerektiğini göstermektedir (72).

Günümüzde 2.500'den fazla serotip bulunmakta ve S. *enterica* subsp. *enterica* (alt tür I) içinde yer alan 1.500'den fazla serotip isimlendirilmişken, S. *enterica* ve S. *bongori*'ye ait diğer alttürler ise sadece formül ile gösterilmektedir (29).

Moleküler Tiplendirme

Fenotipik yöntemler, epidemiyolojik değerlendirme için bir temel oluşturmaktadır. 1970'lerde büyük gelişme kaydedilen moleküler yöntemler, epidemiyolojik çalışmalarda fenotipik yöntemlerin ne kadar sınırlı olduğunu göstermiştir (155). Epidemiyolojik araştırmalarda serotiplendirme kullanıldığı halde, bu yöntem, birçok moleküler alt tipleme yöntemleriyle karşılaştırıldığında, zayıf ayrım gücüne sahiptir (157). Moleküler tiplendirme ile *Salmonella* sürveyansının özgüllük ve duyarlılığı artmakta, fenotipik yöntemlerle tanımlanamayacak ve salgınlara sebep olabilecek olguların doğru bir şekilde,

zamanında tespit edilmesi mümkün olmaktadır (158). Ayrıca salgın durumlarında serotiplerin hızlı ve güvenilir bir şekilde tiplendirilmesini yapabilmektedir (154, 157). Moleküler tiplendirme yapılırken PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), plazmid analizi, random amplifiye polimorfik DNA analizi, multilokus sekans analizi, mikroarray DNA analizi ve IS200 profilleme gibi bir çok yöntem kullanılmaktadır (159). PFGE altın standarttır (153).

MALDI-TOF MS ve PZR tabanlı multipleks paneller gibi moleküler yöntemler *Salmonella* tanısında kullanılmaktadırlar. MALDI-TOF MS, *Salmonella*'ları cins düzeyinde tanımlayabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, *Salmonella* serotip Typhi'yi diğer *Salmonella* serotiplerinden ayırabilen MALDI-TOF MS sistem veritabanları geliştirildiği gösterilmiştir (29, 160). *Salmonella*'ları MALDI-TOF MS dışında, PZR-ESİ-MS yöntemiyle de cins düzeyinde tanımlayabilmek mümkündür. Yapılan çalışmalarda, bu yöntemin de *Salmonella* için oldukça yüksek duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (161). PZR tabanlı mutipleks paneller de *Salmonella* için cins düzeyinde tanımlama yapabilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu panellerin oldukça yüksek duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu yöntemle elde edilen sonuçların doğrulayıcı başka yöntemlerle konfirme edilmesi önerilmektedir (29).

Serolojik Testler

Tifo, paratifo ve septisemili hastaların kanında, bakterinin O ve H antijenlerine karşı oluşan antikorlara, tüp aglütinasyon yöntemi olan Gruber Widal testi ile bakılmaktadır (26). 7-10 gün arayla alınan iki hasta serumundaki antikor titresindeki artış ya da tek serum alınıyorsa antikor titresinin 1/320 olması anlamlı kabul edilmektedir (26). Gruber Widal testinin tanıdaki rolü, düşük bir duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu için tartışmalıdır (150). Antikorlarda özgül olmayan başka sebeplerle artış olabileceğinden yalancı pozitif sonuçlar elde edilebilmektedir. Tek başına tanı testi olarak kullanılamaz. (153).

2.2.2.7. Tedavi

Non-tifoidal *Salmonella* enfeksiyonları, normalde kendi kendini sınırlayıcı özellikte oldukları için antibiyotik tedavisine ihtiyaç duymazlar, çünkü böyle bir tedavi patojen eliminasyonunu uzatabilmektedir. Bu tür hastalarda spesifik antimikrobiyal tedavi, ciddi invaziv vakalarda veya sepsis durumunda endikedir. Bir yaş civarı bebeklerde, çok yaşlılarda, doğuştan veya edinilmiş immün yetmezliği olanlarda, hastalığın tamamen gastroenteritik olduğu durumlarda bile kalp kapakçıklarında veya damarlarında bilinen anomalileri olan veya protez kalp kapakçığına sahip hastalarda, her zaman bir komplikasyon riski olabileceği için, antimikrobiyal tedavi düşünülmelidir (103).

1970'li yıllarda dünya çapında yaygın bir hal alan direnç gelişimi nedeniyle, 40 yılı aşkın bir süre boyunca enterik ateş tedavisinde kullanılan kloramfenikolün yerine tedavide siprofiloksasin kullanılmaya başlanmıştır. 21. yüzyılda enterik ateşin tedavisi, çoklu ilaç direncinin gelişmesi, siprofloksasine duyarlılığın azalması ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz direncinin gelişmesi nedeniyle zorlaşmaya başlamıştır. Antimikrobiyal ajan seçimi; lokal antimikrobik direnç paternleri, hastalığın şiddeti, uygun ilacın ülke şartlarında bulunabilirliği ve maliyeti gibi diğer faktörlere bağlı olarak yapılmaktadır (150).

Salmonella tedavisinde, artan direnç nedeniyle, özellikle Hindistan gibi çoklu ilaç direnci prevalansının yüksek olduğu bölgelerden hastalığın bulaşması halinde, kültür yöntemi ile direnç belirlenmesi prensip olarak tavsiye edilmektedir. Direnç testinin sonuçlarına göre tedavide; siprofloksasin gibi florokinolonlar veya alternatif olarak ampisilin, azitromisin veya üçüncü kuşak sefalosporinler (örneğin sefotaksim) kullanılabilmektedir. 2011 yılında AB'den gelen verilere göre, insanlarda görülen non-tifoidal *Salmonella* izolatlarının % 5-13'ünün siprofloksasine dirençli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, NDM-1 (New Delhi metallo-betalactamase 1) üreten fluorokinolon-dirençli ve karbapenem-dirençli *Salmonella* suşlarının da, Hindistan'ın alt bölgelerinde ortaya çıktığı ve buradan bireysel vakalarla komşu ülkelere ve Çin, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya yayıldığı tespit edilmiştir (103).

İmmün sistemi baskılanmış *Salmonella* vakalarında antimikrobiyal tedavinin, 7-10 gün veya 14 gün süreyle uygulanması önerilmektedir. Non-tifoidal salmonellozlarda çok nadir görülen kronik taşıyıcılığın (*Salmonella* taşıyıcılığı 1 yıldan fazla süren) tedavisi için

de yukarıda *Salmonella* tedavisi için ismi geçen antibiyotiklerin kullanımı uygun bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu gibi durumlarda muhtemel predispozan faktörlerin (özellikle safra taşlarının) olup olmadığı açıklığa kavuşturulmalı ve hastalar, örneğin kolesistektomi gibi yöntemlerle, spesifik olarak tedavi edilmelidirler. 4-6 haftalık antimikrobiyal tedavinin ardından, tedavinin başarıya ulaşıp ulaşmadığı, uygun mikrobiyolojik yöntemlerle kontrol edilmelidir (103).

2.2.3. *Shigella* Türleri

2.2.3.1. Tarihçe

Dizanteri, Hipokrat tarafından kanlı, mukuslu, ağrılı dışkılamayla seyreden hastalıklar için kullanılmış bir terimdir (162). Dizanteri etkenlerinden biri olan *Shigella*, 1896 yılında Shiga tarafından bulunmuştur (163). 19. yüzyılın son yıllarında Japonya'da periyodik olarak onbinlerce insanı yüksek ölüm oranı ile etkileyen dizanteri salgınları meydana gelmiştir. 1897 salgınında % 20'nin üzerinde ölüm oranı görülmüş ve 91.000'den fazla insan bu salgından etkilenmiştir. Shiga, Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü'nde 36 dizanterili hastanın dışkısını incelemiştir. Gram negatif, indolü negatif, dekstrozu fermente edebilen ve mannitolden asit oluşturmayan bir bakteri izole etmiştir. Bu bakteri "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"nin 1930'daki baskısında ilk defa *Shigella* ismiyle yayınlanmıştır (164). Daha sonraki yıllarda, *S. flexneri*, *S. boydii* ve *S. sonnei* olarak adlandırılan üç grup, *Shigella* cinsine taksonomik olarak dahil edilmiştir (163).

2.2.3.2. Sınıflandırma

Shigella cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer almaktadır. Biyokimyasal özelliklerindeki farlılıklar ve O antijen değişikliklerine göre tanımlanmış dört alt grubu ve 43 serotipi bulunmaktadır. Grup A (*S. dysenteriae*), grup B (*S. flexneri*), grup C (*S. boydii*) ve grup D (*S. sonnei*). *S. dysenteriae*'nin 15 serotipi, *S. flexneri*'nin 8 serotipi ve 9 subtipi, *S. boydii*'nin 19 serotipi ve *S. sonnei*'nin 1 serotipi bulunmaktadır (70). A, B ve C alt gruplarının biyokimyasal özellikleri birbirine benzemekle birlikte D alt grubunun özellikleri diğerlerinden farklıdır. Bu sebeple CDC'nin (Centers for Disease Control and Prevention) 1989'da önerdiği sınıflamada *Shigella*'lar ikiye ayrılmaktadır. İlk grup *Shigella*-A, B, C serogrupları, ikinci grup *Shigella sonnei*'dir (135). *Shigella* ve *E. coli*

genetik açıdan birbirlerine çok benzemekte ve tek bir genom türünü oluşturmaktadırlar. *Shigella*'lar anaerojenik *E. coli* biyotipi olarak değerlendirilebilmektedir (72).

2.2.3.3. Morfoloji

Shigella, yaklaşık 2-3 µm boyunda, 0,5 µm eninde, hareketsiz, kapsülsüz, fakültatif anaerop, Gram negatif basillerdir (135). En iyi üreme sıcaklığı 37°C'dir. Kanlı besiyerinde düzgün, gri, nemli 2-3 mm çapında olan bir koloni görüntüsündeyken, MAC agarda renksiz görünmektedir (135). Genel olarak *Shigella* türlerinin biyokimyasal özellikleri: Laktoz (-), glukoz (+), H_2S (-), sitrat (-), lizin dekarboksilaz (-), üre (-), motilite (-), indol (+/-), metil kırmızısı (+), Voges-Proskauer (-) olarak saptanmaktadır (63). Ancak çeşitli istisnalar mevcuttur. Glukoz fermentasyonu sırasında *S. flexneri* 6 ve *S. boydii* 14 gaz oluşturmaktadırlar. *S. sonnei*'nin inkübasyonu uzatıldığında laktozu ve sukrozu fermente edebilmektedir (72). Oksidaz negatif, katalaz pozitif bakterilerdir. Ancak *Shigella dysenteriae* tip 1'in katalazı negatiftir (165). *S. sonnei* ve *S. dysenteriae* serotip 1, beta galaktozidaz (ONPG'nin (o-nitrophenyl-beta-D-galactoside) ayrışmasını katalizler) pozitiftir. *S. boydii* serotip 13 ornitini dekarboksile eder ve ONPG pozitiftir (165). *Shigella* ve *E. coli*'nin ayırımını sağlayan biyokimyasal testler ise tablo 21'de görülmektedir (72).

Tablo 21. *Shigella* ve *E. coli*'nin ayırımını sağlayan biyokimyasal testler

Test sonucu[a]	Test					
	Lizin dekarboksilaz	Hareket	Glukozdan gaz üretimi	Asetat kullanımı	Mukat	Laktoz
Shigella	-	-	-	-	-	-
İnaktif *E. coli*[b]	F	-	-	F	f	f
E. coli	+	+	+	+	+	+

[a]Kısaltmalar: +, 1-2 gün içinde % 90 veya üzerinde pozitiflik; -, 7 gün içinde (% 90 veya üzerinde) reaksiyon olmaması; f, farklı reaksiyonlar [+, (+), +].

[b]Hareketsiz, anaerojenik biyotipler bazen Alkalescens-Dispar biyoserotipleri olarak verilmektedir.

72 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Shigella'lar yapısal O antijenlerine göre subgrup ve serotiplere ayrılmaktadırlar (72). H antijenleri bulunmamaktadır. Bazı *Shigella* suşlarında serotiplendirmede önemi olmayan, fakat O antijeninin serolojik reaksiyonunu engelleyen K antijenleri bulunmaktadır (135). Bu durumu ortadan kaldırmak için hazırlanan bakteri süspansiyonu 100°C'de 15-30 dakika bekletilmektedir (72). *S. flexneri*'nin 1-5 serotiplerinde immünolojik olarak aynı olan fimbria antijenleri bulunmaktadır (135).

2.2.3.4. Virulans Faktörleri ve Patogenez

Shigella'nın enfeksiyon oluşturabilmesi için 200'den az bakteri yeterli olmaktadır. Bulaşıcılığı çok yüksektir. İnsandan insana yayılma özelliği bulunmaktadır (135). Ağızdan alındıktan sonra asite dayanıklı olduğundan mideyi geçip ince bağırsağa gelerek burada çoğalmaktadır. Bu dönemde ateş, ağrı, sulu ishal meydana gelmektedir (26). Bakteri kolona indikten sonra, mukozadaki kolon ve rektum hücrelerine invazyon yapmaktadır. Makrofajlarda ve epitelyal M hücrelerinde hasar oluşturmaktadır. Hücreden hücreye geçiş yaparak hücreler içinde çoğalmaktadır. Subepitelyal dokuda makrofajların apopitotik olarak tahrip edilmesi *Shigella*'nın hayatta kalmasına izin vermekte ve inflamasyon daha fazla bakterinin içeri girmesini kolaylaştırmaktadır (166). Bakteriler tüm mukoza yüzeyini kaplamakta, ancak lamina propria altına geçemediğinden nadir durumlarda bakteriyemi yapabilmektedirler. Lamina propriada mikro abseler meydana gelmekte ve bunlar birleşerek kolona açılmaktadırlar. Abselerin altında ülserler oluşmaktadır. Tüm bu olaylar kanlı ve az miktarda dışkılama ile tenesmusa neden olmaktadır (26). *Shigella*'nın patojenik suşları T3SS aracılığıyla mukozaya invazyon yapabilmektedirler. T3SS aracılığıyla toksinler dahil çok sayıda bakteriyel protein bakteri sitoplazmasından konak organizmanın bağırsak mukoza hücrelerinin içerisine enjekte edilmektedir. VirA, OspB-OspG proteinleri, IpaA-D ve IpgD dahil yaklaşık 20 kadar sekrete edilen proteinler, bakteriyel içeriğin nonfagositik hücrelere girişini uyarmakta ve bu proteinler hücreleri apopitoza sürüklemektedir (166). *Shigella* suşları konak organizmaya ait antimikrobiyal peptitlerin üretimini azaltarak, kendilerinin bağırsak hücrelerinde yaşamalarını ve kolonizasyonlarını kolaylaştırmaktadır (167). Tip III salgı sistemine sahip bakterilerin patojen suşları, doğrudan virulans genleri taranarak tespit edilebilmektedir (166).

Yapılan çalışmalarda *Shigella*'da bir eksotoksinin enterotoksin aktivitesine sahip olduğu ve bağırsak mukozası incelendiğinde sitotoksik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (26). İnvazyon, *Shigella* suşlarının primer virulans karakteristiğidir, ancak organizmalar kolon mukozasını işgal ettikten sonra, lokal yıkıcı mukozal lezyonun gelişiminde toksin de rol oynamaktadır. Toksin, hastalıkların birinci veya ikinci günlerinde karakteristik olarak görülen sulu ishali oluşturmaktadır (166). Toksin, hücre parçalandığı zaman açığa çıkmaktadır. Toksinin esas etkisi damar endoteli üzerindeki sitotoksik etkidir.

Bu durum HÜS gelişiminde rol oynamaktadır. *S. dysenteriae* 1'de toksin salınımı fazlayken, *S. sonnei* ve *S. flexneri*'de salınım daha az olmaktadır (26).

2.2.3.5. Klinik ve Epidemiyoloji

Shigella'nın sebep olduğu gastroenteritte görülen ilk belirtiler; yüksek ateş, kramp şeklinde karın ağrısı, miyalji, halsizlik ve bol sulu dışkılama olmaktadır. Kuluçka süresi 1-4 gündür ve hastalık genellikle 5-7 gün içinde iyileşmektedir (29). İlerleyen günlerde ateşin düşmesiyle günde 10-20 kez ve bazen 40'a kadar çıkabilen dışkılama olmaktadır (26). Dışkı kanlı ve mukuslu olabildiği gibi kansız da olabilmektedir (72). Ancak dışkı miktarı azalmaktadır. Hastalarda tenesmus, hastalığın şiddetiyle ilişkili olarak ateş, batında hassasiyet, bağırsak seslerinde artış, toksemi görülmektedir (26).

Shigella'nın dört alt grubu farklı şiddetlerde dizanteriye sebep olmaktadır. *S. dysenteria* 1'in Shiga toksinine bağlı olarak enfeksiyon daha ciddi seyirli ve çoklu ilaca direnç görülürken, *S. boydii*'ye bağlı şigelloz nadirdir, *S. sonnei*'nin sebep olduğu enfeksiyon ise asemptomatik olabilmektedir (29). Basilli dizanteri sağlıklı kişilerde ortalama bir haftada düzelmektedir (26). Antimikrobiyal tedavi semptomların süresini, şiddetini ve bulaşıcılığı azaltmaktadır (29). Dışkıyla bakteri atılımı, antibiyotik tedavisi yapılmazsa, 1-4 hafta kadar sürebilmektedir. Malnütrisyonu olan hastalarda seyir şiddetli olabilmekte, dehidratasyon ve hipovolemik şoka bağlı ölüm görülebilmektedir (26).

Shigella, çeşitli komplikasyonlara neden olabilmektedir. Kolonun toksik dilatasyonu, bağısak perforasyonu, rektum prolapsusu, konvülsiyon, hipoglisemi, hiponatremi, ensefelopati, malnütrisyonu olanlarda bakteriyemi, *S. dysenteriae*'nin Shiga toksinine bağlı HÜS, *S. flexneri* enfeksiyonu ile Reiter sendromu gelişebilmektedir (26, 72). Pnömoni, nadir fakat olası bir komplikasyon olarak karşımıza çıkabilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde, *S. sonnei* ve *S. flexneri* enfeksiyonlarının yetersiz beslenen bebeklerde akut pnömoniye neden olduğu ve % 14'lük bir ölüm oranına sahip olduğu bildirilmiştir (168).

Shigella'nın bilinen tek doğal rezervuarı insanlar ve büyük primatlardır (29). Dışkıyla bakteri atılımı 1-4 hafta sürebilmektedir (26). İnsandan insana fekal-oral yolla bulaştığı gibi ayrıca taşıyıcıların ya da enfekte kişilerin dışkısıyla kirlenmiş su veya gıda tüketimi yoluyla da bulaşma görülebilmektedir (29). Gelişmekte olan ülkelerde kirli sular,

kötü hijyenik koşullar, malnütrisyon ve kişilerle yakın temas yüksek *Shigella* insidansına sebep olmaktadır (162). Sanayileşmiş ülkelerde, günlük bakım merkezleri gibi kurumlarla ilişkili olarak yayılım olabilmektedir (169). Benzer şekilde, büyük gıda servis kuruluşlarındaki gıda personelleri, genellikle patojen mikroorganizmaları taşımakta ve çok sayıda insan için enfeksiyon kaynağı olabilmektedirler. Sinekler, *Shigella*'nın iletimi için bir vektör görevi görebilmektedir (162). Sıcak ülkelerdeki dizanteri prevelansı, sinek nüfusunun en yaygın olduğu dönemde en yüksektir. *Shigella* enfeksiyonları yıl boyunca, ancak en sık yaz aylarında ortaya çıkmaktadır. Sıcak ve kuru havalarda suyun azalmasına bağlı olarak el yıkama ve diğer hijyen koşullarının sağlanamaması yüksek görülme sıklığının sebebi olarak tahmin edilmektedir (162, 166).

Shigella'nın hastalığa neden olması için yalnızca 10-100 organizmanın bulunması yeterli olmaktadır. Böyle düşük bir enfektif doz ile *Shigella* büyük salgınlara yol açmaktadır. Salgınlar genellikle yaz aylarında ortaya çıkmaktadır (29, 162). *Shigella* türlerinin görülme sıklıkları ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Gelişmişlik düzeyi değiştikçe görülen türde de değişiklik gözlenmektedir (26). Gelişmiş ülkelerde en sık *S. sonnei*, gelişmekte olan ülkelerde en sık *S. flexneri* görülmektedir (72). ABD ve Avrupa ülkeleri'nde en sık *S. sonnei,* ikinci olarak da *S. flexneri*, Afrika ve Asya ülkelerinde *S. dysenteriae* görülmektedir. Türkiye'de önceleri *S. flexneri* sık görülürken 1990'lardan sonra *S. sonnei* öne geçmiştir (135). Altı aydan küçük bebeklerde anne sütüyle beslenmeye bağlı olarak hastalık oluşmamaktadır. Gelişmiş ülkelerde anne sütüyle beslenmeyen bebeklerde ciddi enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir (166).

Dünya genelinde yılda 165 milyon vakadan yaklaşık 1 milyonu *Shigella* enfeksiyonu nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde *Shigella* enfeksiyonuna bağlı vakaların % 70'i ve ölümlerin % 60'ı beş yaşın altındaki çocuklarda görülmektedir (166). İnsidans, 5 yaşından sonra azalmakta ve etkene maruz kaldıktan sonra koruyucu bağışıklık gelişmektedir (168). İngiltere'de her yıl yaklaşık 20.000-50.000, ABD'de her yıl yaklaşık 13.000-19.000 şigelloz vakası görülmekte ve *S. sonnei* ve *S. flexneri* baskın patojenler olarak tanımlanmaktadır (166). Son otuz yılda *Shigella*'ya bağlı mortalitenin azaldığı gözlenmektedir. Bu durumun birçok sebebi olmakla birlikte *S. dysenteriae* 1'in prevelansındaki azalma da nedenlerden birini oluşturmaktadır (29).

2.2.3.6. Laboratuvar Tanısı

Shigella akut kanlı ishalin en sık nedenleri arasında yer almaktadır. Klinik tablo amipli dizanteri gibi diğer kanlı ishallerden ayırt edilemediğinden *Shigella* tanısı laboratuvar incelemeye dayanmaktadır. *Shigella dysenteriae* tip 1 gibi *Shigella* türleri, ciddi seyirli ve dirençli olduğundan, *Shigella* tanısı ve tedavisi önemli olabilmektedir. Kesin tanı, kültür ile elde edilen şüpheli kolonilerin biyokimyasal testler ve özgül antiserumlarla değerlendirilmesiyle konmaktadır. Sadece biyokimyasal test ya da sadece antiserumlarla yapılan tanımlama yeterli kabul edilmemektedir. Bu testlerden birini yapan laboratuvarların sonuçların doğrulanması için örnekleri referans laboratuvara göndermeleri gerekmektedir (165).

Mikroskobik inceleme

Genellikle kirli-bulanık özellikte mukusu olan ve kanlı dışkının mikroskobik incelemesinde bol lökosit ve eritrosit görülmektedir (26).

Kültür

Doğru zamanda, doğru şekilde alınan ve uygun besiyeri kullanılarak yapılan kültürde bakteri izolasyon oranı daha yüksek olmaktadır. Canlı bakteri miktarı hastalığın akut döneminde daha fazla olduğundan, dışkı örneği bu dönemde laboratuvara gönderilmelidir (166). Gönderme işlemi 2 saatten uzun sürecek örnekler taşıma besiyerine alınmaktadır. Çünkü oda sıcaklığında uzun süre beklemiş örneklerde bakteri sayısında ciddi azalma olmaktadır. Bunun için tamponlanmış gliserollü tuzlu su ya da Cary-Blair taşıma besiyeri kullanılabilmektedir (63). Zenginleştirme besiyeri tüm hasta örneklerinde kullanılmamaktadır. Temaslı ve taşıyıcı hastalarda kullanılması önerilmektedir (165). Bunun için Selenit-F ve GN zenginleştirme sıvı besiyeri kullanılmakla birlikte Selenit-F bazı *Shigella* türlerini inhibe etmektedir. Örnek laboratuvara ulaştığında önce zenginleştirme besiyerlerine alınarak 37°C'de inkübe edilmektedir. Zenginleştirme yapıldıktan sonra örnekler seçici besiyerlerine ekilmektedir (63). *Shigella*'nın izolasyon oranını arttırmak için birden fazla besiyeri kullanılması önerilmektedir (72). Düşük seçici özellikteki MAC agar laktoz pozitif ve negatif kolonilerin biribirinden ayrılmasını sağlamaktadır. HEK agar, DCA agar, XLD agar ve SS agar daha iyi seçici özellik göstermektedirler. Ancak SS agar bazı *S. dysenteriae* tip 1 suşlarının üremesini inhibe

etmektedir. Bu yüzden tek başına tanı için kullanılması uygun değildir (165). Ekilen besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmektedir. İnkübasyon sonrası *Shigella;* MAC, EMB ve Endo agarda laktozu fermente etmediği için renksiz olarak görünmektedir. HEK agarda yeşil, XLD agarda kırmızı, SS agarda renksiz ya da yarı saydam görünmektedir (63).

Biyokimyasal Testler

Besiyerlerinde elde edilen şüpheli kolonilere çeşitli biyokimyasal testler uygulanmaktadır. Genel olarak *Shigella* türlerinin biyokimyasal özellikleri: Laktoz (-), glukoz (+), H_2S (-), sitrat (-), lizin dekarboksilaz (-), üre (-), motilite (-), indol (+/-) olarak saptanmaktadır. Oksidaz negatif, katalaz pozitif bakterilerdir. Ancak *S. dysenteriae* tip 1'in katalazı negatiftir (63, 165). *Shigella* türleri çeşitli biyokimyasal özellikler yönüyle biribirinden farklılık göstermektedirler. Bunlar tablo 22'de görülmektedir (70).

Tablo 22. *Shigella* cinsine ait bakterilerin biyokimyasal farklılıkları

BİYOKİMYASAL TEST	***S. dysenteriae***	***S. flexneri***	***S. boydii***	***S. sonnei***
• **Serogrup**	**A**	**B**	**C**	**D**
• **ONPG**	-	-	-	+
• **Ornitin dekarboksilaz**	-	-	-	+
• **Fermentasyonlar:**				
➢ **Laktoz**	-	-	-	-
➢ **Mannitol**	-	+	+	+
➢ **Raffinoz**	-	F	-	-
➢ **Sukroz**	-	-	-	-
➢ **Ksiloz**	-	-	f	-
• **İndol üretimi**	f	F	f	-

+: % 90 veya daha fazla suş pozitif; -: % 90 veya daha fazla suş pozitif; f: farklı suşlar pozitif veya negatiftir.
ONPG: "ortho-Nitrophenyl-β-galactoside"

70 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

Bazı *Shigella* suşlarıyla ilgili istisnalar bulunmaktadır. *S. sonnei* ve *S. dysenteriae* serotip 1 ONPG pozitiftir. *S. boydii* serotip 13 ornitini dekarboksile eder ve ONPG pozitiftir (165). *S. boydii*'nin az sayıdaki suşları ve *S. flexneri* tip 6'nın bazı suşları gaz üretmektedirler. *S. sonnei*'nin bazı suşları laktozu fermente etmektedirler (72).

Serotiplendirme

Biyokimyasal testlerle *Shigella* olarak belirlenen bakteriler için kliniğe olası *Shigella* ön raporu verilmektedir. Kesin tanı serogruplandırma ile doğrulanarak konmaktadır (165). *Shigella*'larda sadece O yüzeyel antijenleri bulunmaktadır. Kirpikleri olmadığı için hareketsizdirler (156). Lam aglütinasyonla polivalan antiserumlar kullanılarak serogruplama, monovalan antiserumlarla da serotiplendirme yapılmaktadır. Virulansı önemli ölçüde yüksek olduğundan ve ölüm oranları fazla olabileceğinden *S. dysenteriae* serotip 1'in tanımlanması mutlaka gerekmektedir. Grup A olarak tespit edilen suşun serotiplendirilmesi, eğer monovalan antiserum bulunmuyorsa hemen referans laboratuvara gönderilmesi gerekmektedir. Test edilen örnekte aglütinasyonun olmadığı durumlarda, örnek 100°C'lik su banyosunda ısıtılarak aglütinasyon işlemi tekrar edilmektedir (72, 165).

Shigella, serolojik benzerlik ve fermentasyon reaksiyonlarına bağlı olarak dört gruba ayrılmıştır: Grup A (*S. dysenteriae*), Grup B (*S. flexneri*), Grup C (*S. boydii*) ve Grup D (*S. sonnei*). *S. dysenteriae*'nin 15 serotipi, *S. flexneri*'nin 8 serotipi ve 9 subtipi, *S. boydii*'nin 19 serotipi ve *S. sonnei*'nin 1 serotipi bulunmaktadır (70).

Shigella ve *E. coli* genetik olarak % 80-90 oranında birbirlerine benzemekte ve hemen hemen tüm *Shigella* suşlarının *E. coli*'nin bir biyotipi olduğu düşünülmektedir (170). *Shigella* benzeri *E. coli* suşlarının, *Shigella* serotipleriyle ilgili somatik antijenlere sahip oldukları çalışmalarda gösterilmektedir (166). Aktif veya tipik *E. coli* suşları, lizin dekarboksilaz, hareketlilik, gaz üretimi, asetat kullanımı ve laktoz fermantasyonu dahil olmak üzere çeşitli testlerle *Shigella*'dan ayırt edilebilirken, *E. coli*'nin inaktif suşları, *Shigella* ile örtüşen reaksiyonlara sahip olabilmektedirler (29).

Moleküler Yöntemler

Shigella ve E. coli'nin birbirleriyle olan benzerlikleri nedeniyle, Bruker Biotyper ve Biomerieux Vitek MS gibi rutinde kullanılan MALDI-TOF MS sistemleri, kültür izolatlarından *Shigella* identifikasyonunu güvenilir bir şekilde yapamamaktadır (29). *Shigella* tanısında ticari olarak geliştirilmiş multipleks PZR sistemleri yüksek tanısal duyarlılığa sahip olmakla beraber, bu sistemler özellikle *ipaH* geni üzerine odaklandıkları için *Shigella* spp. ile EIEC ayrımını tam olarak yapamamaktadırlar (171).

2.2.3.7. Tedavi

Diyare kaynaklı dehidrasyonu gidermek için oral rehidrasyon terapisinin ortaya çıkması, herhangi bir etyolojiden kaynaklanan ishale bağlı ölüm sayısını önemli ölçüde azaltmıştır. Şigellozda şiddetli dehidrasyon nadirdir ve uygun hidrasyon ile, şigelloz genellikle kendini sınırlayan bir hastalıktır. Bununla birlikte, şiddetli vakalarda, antimikrobiyal tedavi olmadan şigellozun mortalitesi büyük oranda artar (162). Şigelloz için en önemli terapötik müdahale sıvı ve elektrolit tedavisinden oluşur. Antimikrobiyal tedavi, organizmanın klinik semptomları ve dışkı atımı süresini kısaltır. Dünya genelinde birinci basamak antibiyotiklere dirençli *Shigella* izolatları rapor edildiğinden, üçüncü kuşak sefalosporinler ve kinolonlar tedavinin temel dayanak noktasıdır. *Shigella* suşlarında TEM-, SHV- ve CTX-M-türleri gibi geniş spektrumlu β-laktamazlar (ESBL) saptanmıştır (163). Artan direnç gelişimi nedeniyle, patojenin direncinin test edilmesi önerilmektedir. Tedavide prensip olarak, üç gün boyunca azitromisin 1 x 500 mg p.o. veya 3 - 5 gün boyunca siprofloksasin 2x500 mg p.o. verilmesi önerilmektedir. Direnç profiline bağlı olarak tedavide, üçüncü kuşak sefalosporinler de (örneğin; 3 - 5 gün boyunca, sefotaksim 3x2 gr i.v.) tercih edilebilmektedir. Genel durumu iyi olan hastalar için, oral sıvı replasmanı ile semptomatik tedavi yeterli olabilmektedir (103).

2.2.4. Diğer Bakteriyel Etkenler

2.2.4.1. *Escherichia coli*

Escherichia; *Enterobacteriaceae* ailesine ait ve altı türden oluşan bir bakteri cinsidir. *E. coli*, bu cinse ait bakterilerden biridir (diğerleri *Escherichia albertii, Escherichia blattae, Escherichia fergusonii, Escherichia hermannii* ve *Escherichia vulneris*). Bu cins, yenidoğanların dışkı florası üzerine çalışmalar yapan Theodore Escherich tarafından, 1885 yılında tanımlanmıştır. *Shigella* cinsi üyeleri, fenotipik olarak *E. coli* ile oldukça benzerdirler ve DNA-DNA hibridizasyon analizleri ile tüm-genom sekans analizleri, *Shigella boydii* serotip 13 dışında, *Shigella* ile *E.coli*'yi aynı tür olarak tanımlamaktadır (72, 172).

Escherichia cinsi, hareketli veya hareketsiz bakterilerden oluşmaktadır. Bu cinse ait türler Gram negatif ve oksidaz negatif çomaklardır. MAC agarda iyi üremektedirler. Hareketli olanların yüzeylerinde fimbriyalar ve flagellalar bulunmaktadır. Aerobik veya

anaerobik koşullarda üreyebilmektedirler. Bu gruba ait türlerin hepsi D-glukozu fermente etmektedirler ve çoğu D-glukozun ve diğer fermente edilebilir karbonhidratların fermentasyonu sonucunda gaz çıkışına neden olmaktadırlar. Laktoz, çoğu *E. coli* suşu tarafından fermente edilmektedir. *E. coli*, çoğu suşunun laktoz ve diğer şekerleri fermente edebilmesi ve triptofandan indol üretme yeteneği ile ailenin diğer üyelerinden ayırt edilebilmektedir. Buna ek olarak, çoğu *E. coli* suşu hareketlidir. *E. albertii, E. blattae, E. fergusonii* ve *E. vulneris* suşlarının tamamına yakınında ise laktoz fermentasyonu uzamıştır veya hiç görülmemektedir (72, 172).

Çoğu *E. coli* suşu kolonun lümeninde zararsız olarak bulunmakta ve sağlıklı bireylerde gastroenterite neden olmamaktadır. Bununla birlikte hem sağlıklı kişilerde, hem de immün yetmezlikli kişilerde, çeşitli mekanizmalarla gastroenterite neden olan çok sayıda *E. coli* suşu bulunmaktadır. Gastroenterite neden olan bu patojenik tiplerin epidemiyolojik ve klinik özellikleri, patogenezleri, tanı ve tedavi yaklaşımları tablo 23'te özetlenmiştir (172).

İnce bağırsak tipi ishal yapan *E. coli* türleri; ETEC, EPEC, EAEC ve DAEC (diffüz adeziv *E. coli*)'dir. Bu bakteriler, enterotoksin üretimi veya fırçamsı kenara adezyona bağlı olarak hücrelerin yok edilmesi yoluyla hastalıklara neden olurlar. DAEC'nin ek olarak sitotoksik etkileri de bulunmaktadır. Enfeksiyon etkeninin alımından itibaren iki gün içinde başlayan ve hastalığın başlangıcından itibaren genellikle üç gün içerisinde gerileyen, kendini sınırlayan sulu ishal görülmektedir. İshale, mide bulantısı, kusma veya ateş eşlik edebilmektedir. ETEC ve EAEC, turist diyaresinin ana etkenleridirler. EAEC, hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde, çocuklarda bakteriyel ishalin önemli bir etkenidir. Ayrıca EAEC, HIV'li hastalarda kronik ishale neden olabilmektedir. ETEC ile meydana gelen gıda kaynaklı ishallerin giderek arttığı tespit edilmiştir. DAEC, genellikle 2 yaşından küçük çocuklarda görülen bir ishal etkenidir. EPEC ise yaygın görülen bir etken olmamakla beraber, başta gelişmekte olan ülkelerdeki küçük çocuklarda olmak üzere, hem sporadik hem de epidemik ishale neden olabilmektedir. EPEC, özellikle kronik enfeksiyon söz konusu olduğunda, ağır dehidrasyona veya malnütrisyona neden olabilmektedir (30).

Tablo 23. *E. coli*'nin patojenik tiplerinin epidemiyolojik ve klinik özellikleri, patogenezleri, tanı ve tedavi yaklaşımları

PATOJENİK TİP	EPİDEMİYOLOJİ	KLİNİK ÖZELLİKLER	PATOGENEZ	TANI	TEDAVİ
ETEC	Kontamine su ve gıdalar. Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı ishallerinin major etkeni. Turist ishalinin en sık etkeni.	Bazen şiddetli olabilen, akut sulu ishal,	Çok sayıda fimbriyal adezin, ısıya-dayanıklı ve ısıya-duyarlı enterotoksinler.	Enterotoksinler için PZR veya DNA probları	"Loperamide" (florokinolonlarla kombine edilebilir), azitromisin veya turistler için rifaximin
EPEC	İnsandan insana geçiş. Gelişmekte olan ülkelerde infantil diyarenin önde gelen etkeni.	Şidddetli ishal ve kusma, persistan seyir gösterebilir.	Pilusları aracılığıyla lokal adezyon, intimin-Tir reseptörü aracılığıyla yapışma ve hasarlandırma.	*bfp* veya *eae* genleri için PZR veya DNA probları veya lokalize adezyon için doku kültürü	Şiddetli veya uzamış vakalarda duyarlılık testleri sonucu seçilecek antibiyotikler
EHEC ve diğer STEC	Gıda, su ve insandan insana yayılım. Gelişmiş ülkelerde kanlı ishalin major etkeni.	Sulu ve kanlı ishal, HÜS ile komplike olabilmektedir.	Shiga toksinler, intimin-Tir reseptörü aracılığıyla yapışma ve hasarlandırma.	Sorbitol-McConkey agar, Shiga toksin için immünassay test, *stx* geni için PZR veya DNA probları	Destekleyici tedavi. Antibiyotikler ve antimotilite ajanları kontraendikedir.
EAEC	Geçiş şekli bilinmiyor. Gelişmekte olan ülkelerde kronik ishalin önemli etkeni. Akut, kronik ve turist diyaresinde öne çıkmaya başlamıştır.	Mukoid diyare, sıklıkla persistan.	Çok sayıda fimbriya ile agregativ adezyon; Pet ve diğer toksinler	Agregativ adezyon için doku kültürü veya *aggR* geni için PZR	Turistler ve HIV hastaları için florokinolonlar faydalı olabilir
EIEC	Kontamine gıdalar. Gelişmiş ülkelerde salgınlar.	Sulu ishal veya dizanteri.	Hücresel invazyon, hücre içi hareket ve hücreden hücreye yayılım	*inv* genleri için PZR veya DNA probları	Bilinmiyor
DAEC	Geçiş şekli bilinmiyor. Gelişmekte olan ülkelerde büyük çocuklarda ishale neden olmaktadır.	İyi tanımlanmamış.	Bilimiyor	Diffüz adezyon için doku kültürü	

172 numaralı kaynaktan değiştirilerek kullanılmıştır.

STEC ve EIEC, *E. coli*'nin kolonu etkileyen iki tipidir. STEC suşları hemorajik kolite de neden olduklarından, EHEC olarak da adlandırılmaktadır. EIEC, klinik olarak *S. sonnei* enfeksiyonuna benzer bir hastalığa neden olmaktadır ve bu organizmayla benzer biyokimyasal ve serolojik özelliklere sahiptir. EIEC, epitel invazyonu yapmakta ve kendini sınırlayan sulu ishale veya dizanteriye neden olmaktadır. Semptomlar genellikle hafiftir ve

fluorokinolon veya azitromisin ile tedavi edilebilmektedir. 470'den fazla STEC serotipi insanlarda hastalığa neden olabilirken, vakaların çoğunluğundan *E. coli* O157: H7'yi de içeren yalnızca 10 serotipin sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Hem O157, hem de O157 dışı suşlar, yaz aylarında pik yapan salgınlara neden olmaktadırlar. O157 dışı suşların, tüm STEC enfeksiyonlarının % 20-40'ından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Büyük baş hayvanlar gibi geviş getiren canlılar, STEC için büyük bir rezervuar olup; etlerin, suların ve bitkisel gıdaların kontaminasyonuna neden olmakta ve hastalığın bulaşmasına katkıda bulunmaktadırlar. STEC invaziv değildir, ancak Shiga toksin 1 (Stx 1) ve Shiga toksin 2 (Stx 2) olmak üzere iki farklı toksin üretmektedir. Stx1, *S. dysenteriae* serotip 1'in ürettiği toksinle aynı yapıdadır. Stx2 ise dizanteriye ve TTP (trombotik trombositopenik purpura) /HÜS'e yol açan vasküler endotel hasarından sorumludur. STEC'in invazyon kapasitesi de bulunmaktadır, ancak sistemik etkilerin çoğu, bağırsaklardan absorbe edilen toksinler aracılığıyla olmaktadır (30).

Kolonu tutan *E. coli*'lerle oluşan klinik tablo tipik olarak, mide bulantısı, kusma ve düşük dereceli ateş veya ateş yokluğu, ardından 2-3 gün içerisinde gelişen şiddetli karın ağrısı ve diyareden oluşmaktadır. Bu tür vakalarda kanlı dışkılama da görülebilmektedir. Dışkıda, fekal lökosit görülmeyebilir. Komplikasyon olmadıkça, semptomlar genelde bir hafta içinde düzelmektedir. *E. coli* O157 suşları çoğunlukla sağ kolona lokalize olmakta ve oluşan hastalık tablosu, yaşlı insanlarda iskemik kolit ve çocukluk popülasyonunda intussusepsiyon veya inflamatuar bağırsak hastalığı ile karıştırılabilmektedir. En korkulan komplikasyon, diyare başladıktan birkaç gün sonra hastaların yaklaşık % 5-10'unda görülen TTP/HÜS'tür. Küçük çocuklar ve yaşlılar büyük risk altındadır. TTP/HÜS kalıcı böbrek yetmezliği, felç ve ölümle sonuçlanabilmektedir. Genellikle ilk görülen anormallik trombositopenidir. Bunu hemoliz ve böbrek yetmezliği izlemektedir (30).

STEC enfeksiyonunun tanısı; dışkı kültürü, O157 tipi için özel lipopolisakarit tanı testleri ve Shiga toksin için enzim immünoassay (EIA) ile yapılmaktadır. Shiga toksin pozitif ve O157: H7 negatif olduğunda, O157 olmayan serotipler için test yapılmalıdır. Hem STEC'in, hem de sonucunda oluşan TTP/HÜS'ün tedavisi hidrasyon ile destekleyici tedavidir. ADAMTS-13 eksikliği bulunmadığı takdirde, plazmaferezin tedavide yeri bulunmamaktadır. Belirtileri ortadan kaldırmadıkları, ayrıca bakteriyoliz ve faj indüksiyonu ile toksin salınımını da artırarak TTP/HÜS gelişme riskini artırdıkları için

antibiyotiklerden ve antimotilite ajanlarından kaçınmak gerekmektedir. Son yıllarda yapılan bazı araştırmalar, rifaksimin, azitromisin ve fosfomisinin Shiga toksin üretimine ya da salınmasına neden olmadıklarını ve gelecekte bu ajanların antimikrobiyal tedavi seçenekleri arasına girebileceğini göstermektedir (30).

2.2.4.2. *Yersinia enterocolitica* ve *Yersinia pseudotuberculosis*

Yersinia, *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer alan 0,5-0,8 µm çapında, 1-3 µm uzunluğunda, fakültatif anaerop, sporsuz, bipolar boyanma özelliği gösteren Gram negatif basildir (173). 11 tane türü bulunmakta ancak üç tanesi insanda hastalık etkeni olarak görülmektedir (29). *Y. pestis* hareketsizken, diğer türler oda sıcaklığında hareketlidir (173).

Y. enterocolitica için özellikle domuz önemli bir rezervuardır (174). Ayrıca köpek ve kemirgenler gibi hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunmaktadır. Çiğ veya az pişmiş hayvan etleriyle bulaşmaktadır. *Y. pseudotuberculosis* toprakta, suda, vahşi ve evcil hayvanlarda bulunmaktadır. Bulaşma şekli tam olarak bilinmemekle birlikte gıda ve kirli sulardan bulaştığı düşünülmektedir (173). Bakterinin soğukta üreyebilme özelliği olduğundan gıdaların hijyeninde, raf ömrünü uzatmayı amaçlayan soğutma sıcaklığında çoğalma kabiliyeti bulaşıcılık açısından önemlidir (174). Ayrıca kan ve kan ürünlerinin soğukta saklanması sonucunda bakteri üremesine ortam sağlandığı için transfüzyonlara bağlı bakteriyemi ya da endotoksemi gelişebilmektedir (175). ABD'de her yıl 100.000'de bir vaka tespit edilmektedir (29). En sık Kuzey Avrupa ülkelerinde ve Kanada'da, ayrıca Asya, Afrika, Güney Amerika gibi ülkelerden de izole edilmektedir (175).

Y. enterocolitica'da gastroenteritin şiddeti serotiple ilişkili olarak değişmektedir (173). *Y. enterocolitica*'nın enfeksiyonu bazı durumlarda sağ taraflı karın ağrısı yapabildiğinden apandisit ile karışabilmektedir. Belirtiler tipik olarak maruz kaldıktan 4-7 gün sonra ortaya çıkmakta ve 1-3 hafta sürebilmektedir (29). İmmünsüpresiflerde, hemokromatozlu veya desferrioksamin ile tedavi edilen hastalarda enfeksiyon sonucunda septisemi gelişebilmektedir (174). Komplikasyonlar arasında deri döküntüleri, eklem ağrıları, eritema nodozum, poliartrit ve daha az rastlanan septisemi veya endokardit görülmektedir. Reaktif artrit nadir görülen bir komplikasyondur, ancak özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve HLA-B27 alleli olanlarda meydana gelebilmektedir (29).

Yersinia'nın yaptığı gastroenterit tanısında, kültür için örnek; hastalığın tipine göre dışkı, kan ve lenf düğümlerinden gönderilmektedir (173). Kültürden izole edilen kolonilerin biyokimyasal özellikleri değerlendirilmekte, kesin tanı için referans laboratuvarda biyotiplendirme ve serotiplendirme yapılmaktadır (175).

Yersinia türleri kanlı agar, çikolatamsı agar ve MAC agarda üreyebilmektedir (173). Laktozu fermente etmedikleri için MAC agarda renksiz olarak gözükmektedirler. MAC agar bu bakteriler için düşük seçici özellik göstermektedir (174). Bu bakteriler *Enterobacteriaceae* türlerinden daha yavaş üredikleri için steril olmayan ortamlardan seçici besiyeri kullanılarak izole edilmeleri önerilmektedir. *Y. enterocolitica* için CIN agar ve salmonella-shigella deoksikolat kalsiyum klorid agar kullanılabilmektedir. Ancak *Y. pseudutuberculosis* üremesi CIN agarda inhibe olabileceğinden, izolasyonunda MAC agar kullanılması daha etkin olmaktadır. *Y. enterocolitica*'nın gıdalardan izolasyonu zor olduğundan örnek genellikle bir halk sağlığı laboratuvarına gönderilmekte, ekilmeden önce 21 gün soğukta zenginleştirilmektedir. *Yersinia* türleri 4-43°C'de üreyebilmekte ama en iyi 25-28°C'de üremektedirler (173). *Y. enterocolitica*, CIN agarda merkezi kırmızı olan ve öküz gözü olarak adlandırılan kolonileri oluşturmaktadır (29).

Yersinia katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Üreaz pozitiftir ve glukozu fermente etmektedir. Birçok suş laktoz fermentasyonu yapamamaktadır (174). Enterik *Yersinia* türleri biyokimyasal olarak ayırt edilebilmektedir; Ornitin dekarboksilaz, sükroz ve sorbitolün hepsi *Y. enterocolitica* için pozitiftir ve *Y. pseudotuberculosis* için negatiftir. ELISA, lateral flow testleri de mevcuttur. Ancak araştırmalar için kullanılmaktadırlar. Serolojik testlerin patojen olmayan *Yersinia* türleri ve diğer bakterilerle çapraz reaksiyonlardan dolayı kullanımı sınırlı olmaktadır (29). Çoğu olguda tedavi gereksizdir. Mezenterik adenit, eritema nodosum ve artrit gibi şiddetli hastalığı olanlarda tedavi gerekmektedir. Bunun için fluorokinolonlar, trimetoprim-sülfometoksazol (TMP-SMX) ve aminoglikozid ile kombine edilmiş doksisiklin kullanılması önerilmektedir (30).

2.2.4.3. *Vibrio cholerae*

Kolera, *V. cholerae*'nın O1 veya O139 serogruplarının neden olduğu akut sulu bir ishalli hastalıktır ve kökeni antik dönemlere dayanmaktdır. Son iki yüzyılda kolera, Ganj Deltası'ndan altı kere, Endonezya'dan ise bir kere ortaya çıkarak, küresel pandemiye neden olmuştur. Günümüzde, kolera tüm dünya için hala çok önemli bir hastalık olmaya devam etmektedir ve Afrika, bu hastalığın en yaygın ve en ağır seyrettiği bölgedir. Koleranın endemik olarak bulunduğu ülkelerde, toplamda yılda yaklaşık 2,9 milyon vaka ve 95.000 ölüm meydana gelmektedir. Vakaların % 60'ı ve ölümlerin % 68'inin Afrika'da kaydedildiği tespit edilmiştir. Su kalitesi, sanitasyon ve hijyen koşullarındaki ve kolera tedavisindeki iyileştirmelere rağmen, hastalığın hala her yıl yaklaşık 100.000 ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir (176).

V. cholerae, ekolojik bölgeleri tuzlu kıyı suları ve haliçler olan, çoğunlukla zooplankton ve kabuklu deniz hayvanlarıyla ilişkili bulunan, *Vibrionaceae* ailesine ait bir bakteri grubudur. 200'den fazla *V. cholerae* serogrubu bulunmaktadır. Kolera salgınlarından, O1 (klasik ve El Tor biyotipleri) ve O139 serogrupları sorumludur. Non-O1 ve non-O139 vibriolar da patojeniktirler, ancak epidemilere ve pandemilere neden olmamaktadırlar. Gelişmekte olan ülkelerde kolera, kontamine gıdalar ve sular yoluyla bulaşırken; gelişmiş ülkelerde pişmemiş deniz ürünlerinin tüketilmesiyle bulaşmaktadır. Enfeksiyon için risk faktörleri; 0 kan grubu, HIV ve gastrik asidite eksikliğidir. Kolera turistlerde nadir görülmektedir (30, 176).

Kolora izolasyonu ve identifikasyonu için altın standart yöntem, dışkı kültürüdür. *V. cholerae* O1 ve O139'u tespit etmek için, kullanılan besiyerlerine bağlı olarak koloniler; doğrudan incelenmekte veya seçici olmayan besiyerlerinde yapılan kültürlerinden sonra, farklı monoklonal veya poliklonal antikorlarla lam aglütinasyonu yapılmaktadır. Kültür ile *V. cholerae* izolasyonu iki gün gibi uzun bir süre aldığından, daha hızlı tanı testleri geliştirilmeye başlanmıştır. Günümüzde 20'nin üzerinde hızlı tanı testi geliştirilmiştir. Bu testlerin bir kısmı immünolojik (örneğin; ELISA, koaglütinasyon, lateral akım sistemi) temelli, bir kısmı da moleküler (örneğin; multipleks veya "reverse trancriptase" PZR, nükleik asit lateral akım biyosensörleri) temellidir. Çeşitli laboratuarlarda, multipleks PZR ile *ctxA* geni (kolera toksin geni), O1 ve O139-spesifik *rfb* geni tespiti yapılarak kolera

tanısı konulabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, bu sistemlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri oldukça yüksek bulunmuştur (176).

V. cholerae, ince bağırsağın üst kısımlarında kolonize olmaktadır. cAMP aracılı klor sekresyonunu uyararak, sodyum absorpsiyonunu inhibe ederek, platelet aktive edici faktör (PAF) üreterek ve prostaglandin sentezinde değişikliğe yol açarak ishal oluşturmaktadır. İshal aniden ortaya çıkmaktadır ve pirinç suyunu andırmaktadır. Tabloya genellikle kusma da eşlik etmektedir. Uygun tedavi yapılmadığı zaman, vaka-ölüm oranı % 50'lilere ulaşmaktadır. Günümüzde oral ve intravenöz rehidrasyon tedavisi ile vaka yönetimi için uygulanan akılcı yaklaşımlarla, kolera vaka-ölüm oranları % 50'den % 1'in altına düşürülmüştür. Tedavide öncelikle rehidratasyon amaçlanmaktadır. Antibiyotikler, ishal süresini kısaltmaktadır. Şiddetli vakalarda intravenöz sıvı tedavisi gereklidir ve bu sıvılar izotonik olmalıdır. Hafif vakalarda oral rehidratasyon tedavisi tercih edilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, pirinç, buğday veya amilaza dirençli nişasta solüsyonlarının, standart glukoz bazlı solüsyonlardan daha iyi olabileceğini düşündürmektedir. Hastalar, oral alımı tolere edebildikleri anda yemek yemeli ve bebekler ise anne sütü almaya devam etmelidirler. Hafif ishalli hastalar genellikle 4-5 gün içinde iyileştikleri için, bu tür hastalarda antibiyotik tedavisine gerek duyulmamaktadır (30, 176).

2.2.4.4. *Plesiomonas shigelloides*

P. shigelloides, fakültatif anaerop, oksidaz pozitif, Gram negatif basildir. Uzun yıllardan beri *Vibrionaceae* ailesi içerisinde sınıflandırılmış olmakla birlikte, günümüzde *Enterobacteriaceae* ailesine ait tek türden oluşan ve filogenetik durumu hala tam olarak netleşmemiş bir bakteridir. *P. shigelloides* için en önemli rezervuarlar su, balık, kabuklu deniz ürünleri ve topraktır. 8-45°C arasında değişen büyüme sıcaklıklarına sahip olmakla birlikte en uygun sıcaklık 35-39°C'dir (177). *P. shigelloides,* akut sekretuvar, dizanterik veya persistan ishale neden olabilen nadir bir organizmadır (30). Bakteriyemi, peritonit ve hepatobiliyer hastalık gibi çeşitli ekstraintestinal hastalıklara da sebep olabilmektedir. Dünya çapında bir dağılıma sahip olan bu bakterinin insidans ve prevalansına ait net veriler bulunmamaktadır. Güneydoğu Çin'de akut diyareli hastalarda 2010-2012 yılları arasında yapılan araştırmalarda, hastaların % 2,9'unda ve 2001-2012 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada ise % 0,009'unda, Kuzeybatı Ekvator'da 2004-2008 yılları arasında yapılan incelemelerde % 11,4'ünde, Doğu Tayland'da 2001-2002 yılları arasında

% 10'unda, Güneydoğu Nijerya'da % 1,7'sinde *P. shigelloides* tespit edilmiştir. ABD'de ise insidans ve prevalansla ilgili konvansiyonel metodlarla elde edilmiş net veriler olmamakla birlikte, çok sayıda indirekt verinin incelenmesi sonucunda *Plesiomonas*-ilişkili gastroenterit insidansının % 1'in çok altında olduğu tespit edilmiştir (177, 178).

P. shigelloides, tatlı su sıcaklığının yükseldiği yılın daha sıcak aylarında daha sık görülmektedir. Yeterli çalışma olmadığından bu bakterinin virulans faktörleri ve patojenite ile ilgili mekanizmalar henüz net bir şekilde ortaya çıkarılamamıştır. Ancak bu organizmanın patogenezinde özellikle LPS yapısının, somatik antijenlerinin ve sitotoksin aktivitesinin rol oynadığı düşünülmektedir. *P. shigelloides*'in neden olduğu gastrointestinal enfeksiyonların çoğu kendi kendini sınırlamaktadır. Antimikrobiyal tedavi veya diğer tıbbi müdahaleler, bazı orta ve şiddetli ishal vakaları için veya bu hastalıklardan kaynaklanan fizyolojik veya metabolik sorunlarla mücadele etmek için yapılmaktadır. Çocuklar için azitromisin veya seftriakson, yetişkinlerde siprofloksasin veya azitromisin, daha şiddetli *Plesiomonas* enterit vakalarının tedavisinde kinolon verilmesi önerilmektedir (177).

2.2.4.5. *Aeromonas*

Aeromonas cinsi *Aeromonadaceae* familyasına, *Aeromonadales* takımına ve *Gammaproteobacteria* sınıfına aittir. Bu bakteriler Gram negatif, fakültatif anaerop, oksidaz ve katalaz pozitif, fermentatif ve çoğunlukla hareketli basillerdir. *Aeromonas* yaygın olarak su ortamlarında bulunmaktadır. İnsanların ve hayvanların fırsatçı patojenidir. İnsanlarda gastroenterit, yara enfeksiyonları, bakteriyemi ve daha az sıklıkta solunum yolu enfeksiyonları, hepatobiliyer enfeksiyonlar, peritonit, üriner sistem enfeksiyonları ve oküler enfeksiyonlara neden olmaktadırlar (179).

Aeromonas gastroenteriti ince bağırsak ya da kolonu etkilemektedir. Semptomlar kanlı veya sulu ishal, karın krampları, mide bulantısı, kusma ve ateş olarak görülebilmektedir (30). *Aeromonas*'ı dışkı kültüründen izole etmek besiyerinde bulunanan inhibitör maddelerden dolayı zor olmaktadır. Ampisilin içeren kanlı besiyeri ya da CIN agar kullanılabilmektedir. Üreme için 24 saat inkübasyon gerekmektedir. Koloniler oksidaz ve katalaz pozitifitir, hareketlidirler, nitratı nitrite çevirirler ve üreaz negatiftirler. *Aeromonas*'ın cins düzeyinde tanımlanması zor değildir. Birçok otomatik sistem (ve

dolayısıyla birçok klinik laboratuvar), bir *Aeromonas i*zolatını "*Aeromonas* türü" veya "*Aeromonas hydrophila* kompleksi" olarak rapor edebilmektedir (180).

Hastalık genellikle 1-2 hafta içinde kendi kendine düzelmektedir. Ancak ağır klinik tablolar antibiyotik tedavisi gerektirebilmektedir. Kullanılan antimikrobiyal ajanlar arasında azitromisin, fluorokinolonlar ve TMP-SMX yer almaktadır (30).

Birçok laboratuvar, *Aeromonas* için rutin bir dışkı kültürü yapmamaktadır. Bu nedenle *Aeromonas* ile ilişkili ishal insidansı tahmin edilenden daha düşük oranda saptanmaktadır. *Aeromonas* ile ilişkili ishal genellikle sudaki konsantrasyonlarının en yüksek olduğu yaz aylarında ortaya çıkmaktadır. Çoğu vaka sporadiktir. Ancak bakım merkezleriyle ilgili salgınlar bildirilmiştir (180).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ağustos 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında gastroenterit ön tanısıyla kültür için gönderilen 292 dışkı örneği değerlendirildi. Bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespiti amacıyla kullanılan moleküler temelli BD MAX EBP sistemi ile geleneksel kültür yönteminin etkinliği karşılaştırıldı. Örnekler direkt olarak BD MAX EBP ile test edildi ve eş zamanlı olarak *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* için kültür yapıldı. Ek olarak, bilinen *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* suşlarının 10^6-10^1 CFU/mL olacak şekilde azalan konsantrasyonlarını içeren dışkı havuzları oluşturuldu. Bu örnekler kültür ve BD MAX EBP ile çalışıldı. Her iki yöntemin tespit edebildiği en düşük konsantrasyonlar belirlendi.

Dışkı havuzlama çalışması:

Bu çalışmaya, kanlı ve mukuslu olmayan, sulu, sadece normal bağırsak flora bakterilerini içeren dışkı örnekleri alındı. *Campylobacter jejuni* ATCC 29428, *Salmonella* Cholerasuis ATCC 14028 ve *Shigella flexneri* suşları kullanıldı. Her bir bakteri için bulanıklığı 0,5 McFarland ve bakteri konsantrasyonu $1x10^8$ CFU/mL olan süspansiyonlar oluşturuldu. Bir dışkı örneği için 12 tüp hazırlandı ve iki gruba ayrılarak her gruptaki tüpler birden altıya kadar numaralandırıldı. Altısına, her birinde 900 µL olacak şekilde % 0,9'luk NaCl çözeltisi; diğer altısına ise her birinde 900 µL olacak şekilde dışkı konuldu. % 0,9'luk NaCl çözeltisi bulunan tüplerde; birinci tüpe bakteri konsantrasyonu $1x10^8$ CFU/mL olan süspansiyondan 100 µL konularak, konsantrasyonu $1x10^7$ CFU/mL'ye ayarlandı. Birinci tüpten, altıncı tüpte kadar, son tüpün konsantrasyonu $1x10^2$ CFU/mL olmak üzere, konsantrasyonları azalan sırayla olacak şekilde, bakteri dilüsyonları hazırlandı. Her bir tüpten, diğer gruptaki kendi numarasıyla aynı olan ve dışkı bulunan tüpe 100 µL sıvı aktarılarak $1x10^6$ CFU/mL'den $1x10^1$ CFU/mL'e kadar bakteri dilüsyonları hazırlandı. Farklı dilüsyonlardaki her bir örneğe kültür yapıldı ve eş zamanlı olarak bu örnekler BD MAX EBP ile çalışıldı. Bu çalışmada *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* için beşer dışkı örneği kullanıldı. Her bir dışkı örneği için aynı işlemler tekrarlandı.

Klinik örneklerin işlemlenmesi:

Dışkı örnekleri laboratuvara geliş şekillerine göre iki gruba ayrıldı. 220 örnekten oluşan birinci gruba ait dışkı örnekleri herhangi bir koruma maddesi içermeyen dışkı kaplarında laboratuvara geldi. Bu gruba ait her bir dışkı örneğinin bir kısmı laboratuvarda koruyucu madde içeren Cary-Blair (Copan Transystem®, İtalya) taşıma besiyerlerine aktarıldı. 72 örnekten oluşan ikinci gruba ait her bir dışkı örneği için örneğin bir miktarı koruyucu madde içeren Cary-Blair (Copan Transystem®, İtalya) taşıma besiyerlerine, bir miktarı da koruma maddesi içermeyen dışkı kaplarına konularak laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvara ulaşan tüm hasta örnekleri ilk olarak makroskobik açıdan değerlendirildi. Sonra mikroskobik incelemeye alındı. Tüm örnekler kültür ve BD MAX EBP ile değerlendirildi. Kültürde üreme olduğunda; bakteri tanımlanması için; biyokimyasal testler, serotiplendirme ve MALDI-TOF MS(Bruker Daltonics, Microflex LT) kullanıldı. Gerekli durumlarda antibiyotik duyarlılık testi yapıldı.

İşe girme öncesi muayene ve genel tıbbi muayene tanılarıyla gönderilen örnekler çalışmaya alınmadı. Hasta örnekleri değerlendirilirken yaş ve cinsiyet farkı gözetilmedi. Tüm klinik ve polikliniklerden gelen örnekler incelendi.

3.1. Örneklerin Toplanması ve Gönderilmesi

220 örnekten oluşan birinci gruba ait dışkı örnekleri, en az beş mL sulu veya bir gr büyüklüğünde yumuşak dışkı içerecek şekilde temiz, kuru, sıkı kapaklı, sızdırmayan, kaşıklı dışkı kabına alındı. Laboratuvarda her bir dışkının bir mL'si *Campylobacter* spp. kültürü için Cary-Blair (Copan Transystem®, İtalya) taşıma besiyerine konuldu. Dışkıların geriye kalan kısımları makroskobik ve mikroskobik değerlendirme, *Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. kültürü, BD MAX EBP çalışması için kullanıldı. 72 örnekten oluşan ikinci gruba ait her bir dışkı örneğinin bir miktarı laboratuvara gelmeden önce Cary-Blair taşıma besiyerine, bir miktarı da kaşıklı dışkı kabına alındı. Cary-Blair taşıma besiyerine alınan örnekler *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Campylobacter* spp. ekimi için kullanıldı. Kaşıklı dışkı kabındaki örnekler makroskobik ve mikroskobik değerlendirme için kullanıldı.

3.2. Makroskobik İnceleme

Dışkı örnekleri, makroskobik incelemede kıvamı (katı, yumuşak, sulu), kan ve mukus varlığı yönünden değerlendirildi ve raporlandı. Katı dışkılar çalışmaya alınmadı.

3.3. Direkt Mikroskopi

Dışkı örneklerinin laboratuvara ulaşmasından sonraki 30 dakika içinde örnekler mikroskobik incelemeye alındı. Örneğin farklı bölgelerinden öze ile alınan parçalar, lam üzerine damlatılan bir damla % 0,9'luk NaCl (sodyum klorür) ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Üzerine lamel kapatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda 40x'lık objektifle incelendi. Örnekler; bakteri morfolojileri, lökosit, eritrosit ve parazitolojik elemanların varlığı yönünden değerlendirildi.

3.4. Bakteri Tanımlanması

3.4.1. Kültür Yöntemi

3.4.1.1. *Campylobacter* Kültürü

Campylobacter spp. kültürü için 220 örnekten oluşan birinci gruba ait dışkı örnekleri laboratuvarda Cary-Blair taşıma besiyerine alındı. 72 örnekten oluşan ikinci gruba ait dışkı örnekleri laboratuvara Cary-Blair taşıma besiyerinde kabul edildi. Cary-Blair taşıma besiyerleri daha sonra uygun besiyerlerine ekilmek üzere +4°C'de saklandı. Gün sonunda bu dışkı örnekleri *Campylobacter* beş antibiyotikli % 10 kanlı besiyerine (BD, ABD) ve *Campylobacter* kansız seçici besiyerine (BD, ABD); bir örnek için plağın yarısı kullanılacak şekilde ekildi. Ekilen besiyerleri mikroaerofilik ortam sağlayan gaz sistemi (BD Gaspak^{TM} EZ Campy Container System, ABD) ile birlikte kavanoz (BD Gaspak^{TM} EZ, ABD) içine konularak 42°C'lik etüvde 48 saat inkübe İnkübasyon sonunda üreyen gri, düz, düzensiz, bazen mukoid olan şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı. Gram boyamada *Campylobacter* türleriyle uyumlu spiral, martı kanadı, yay veya virgül şeklinde küçük Gram negatif basiller arandı. Hareket için doğrudan ıslak bakı yapıldı. Bunun için bakteri kolonisinden bir öze dolusu alınıp sıvı besiyeri ile süspanse edilerek mikroskop altında ok gibi fırlar tarzda hareket olup olmadığı gözlendi (63). İleri tanımlama; biyokimyasal testler ve MALDI-TOF MS ile yapıldı. *Campylobacter* olarak tanımlanan örneklere antimikrobiyal duyarlılık testleri, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi

ile Europan Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre yapıldı ve sonuçlar bu standartlara göre değerlendirildi. Campylobacter türlerinin antimikrobiyal duyarlılık testi için bir tane % 5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β-NAD (β-Nicotinamide adenine dinucleotide) içeren Mueller-Hinton Fastidious agara (BD, Almanya), inokulum miktarı 0,5 McFarland'a ayarlanan bakteri süspansiyonundan steril eküvyon çubuğuyla ekim yapıldı. Besiyerine eritromisin 15 µg (Oxoid, United Kingdom) ve siprofloksasin 5 µg (Oxoid, United Kingdom) antibiyotik diskleri yerleştirilerek, besiyeri 42 °C'lik etüvde, mikroaerofilik ortamda, 24 saat inkübasyona bırakıldı (184). İnkübasyon sonunda tüm bakteriler için antibiyotiklerin inhibisyon zon çapları milimetrik cetvel yardımıyla ölçülerek EUCAST standartlarına göre "duyarlı", "orta duyarlı" ve "dirençli" olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlendi ve raporlandı (184).

3.4.1.2. *Salmonella* ve *Shigella* Kültürü

Salmonella spp. ve *Shigella* spp. kültürü için 220 örnekten oluşan birinci gruba ait dışkı örnekleri temiz, kuru, sıkı kapaklı, sızdırmayan, kaşıklı dışkı kabında laboratuvara kabul edildi. Büyük miktarlarda dışkı örnekleri steril öze kullanılarak *Salmonella* spp. kültürü için HEK agar (BD, BBL, ABD), MAC agar (BD, BBL, ABD), SS agar (BD, BBL, ABD) ve Chromagar Salmonella (BD, BBL, ABD) besiyerine; *Shigella* spp. kültürü için HEK agar (BD, BBL, ABD), MAC agar (BD, BBL, ABD) ve SS agara (BD, BBL, ABD), bir örnek için besiyerinin yarısı kullanılmak üzere, yoğun ekim metoduyla ekilmiştir. 72 örnekten oluşan ikinci gruba ait dışkı örneklerinin *Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. kültürleri için ekimi Cary-Blair taşıma besiyerinden aynı besiyerlerine besiyerlerinin yarısı kullanılacak şekilde yapıldı. Ekilen örnekler 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. Laboratuvara geldikten sonra tüm örneklerden bir miktar GN zenginleştirme besiyerine alındı. 37°C'lik etüvde 6-8 saat bekletildikten sonra *Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. kültürü için aynı besiyerlerine ekimleri yapıldı. Ekilen örnekler 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. *Salmonella* spp. tespiti için; HEK agar siyah merkezli olabilen mavi veya yeşil, MAC agar renksiz veya yarı saydam, SS agar siyah merkezli olabilen renksiz veya yarı saydam ve CHROMagar Salmonella ise leylak renkli kolonilerin varlığı açısından değerlendirildi. CHROMagar Salmonella'da 24 saat sonra üreme çok zayıfsa veya üreme yoksa sonuç negatif olarak değerlendirilmeden önce, plak bir gün daha 37°C'lik etüve konularak inkübasyon 48 saate tamamlandı. *Shigella* spp. tespiti için; HEK

agar yeşil, MAC agar renksiz veya yarı saydam, SS agar renksiz veya yarı saydam olan kolonilerin varlığı açısından değerlendirildi (63). Şüpheli kolonilere Gram boyama yapılarak Gram negatif basiller arandı. İleri tanımlama; biyokimyasal testler, MALDI-TOF MS ve serotiplendirme ile yapıldı. *Salmonella* ve *Shigella* olarak tanımlanan örneklere antimikrobiyal duyarlılık testleri, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Europan Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterlerine göre yapıldı ve sonuçlar bu standartlara göre değerlendirildi. *Salmonella* ve *Shigella* türleri için bulanıklığı 0,5 McFarland'a ayarlanmış bakteri süspansiyonundan steril eküvyon çubuğu kullanılarak Mueller-Hinton (BD, Almanya) agara ekim yapıldı. Besiyerine ampisilin 10 µg (Oxoid, United Kingdom), siprofloksasin 5 µg (Oxoid, United Kingdom) ve TMP-SMX 25 µg (Oxoid, United Kingdom) antibiyotik diskleri yerleştirilerek, besiyeri 37 °C'de 24 saat inkübe edildi (184).

İnkübasyon sonunda tüm bakteriler için antibiyotiklerin inhibisyon zon çapları milimetrik cetvel yardımıyla ölçülerek EUCAST standartlarına göre "duyarlı", "orta duyarlı" ve "dirençli" olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlendi ve raporlandı (184).

3.4.2. Biyokimyasal Testler

Campylobacter kültür besiyerlerinde ve mikroaerofilik ortamda üreyen, mikroskop altında kıvrık, martı kanadı şeklinde Gram negatif basil olarak görünen kolonilere oksidaz testi yapıldı. Oksidaz pozitif olanlar *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı (63). Bu kolonilere katalaz ve hippurat testi yapıldı. Aynı anda MALDI-TOF MS ile de tanımlama yapılarak bakteriler tiplendirildi.

Salmonella ve *Shigella* kültür besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerin Gram negatif basil olduğu saptandıktan sonra bu kolonilere oksidaz testi yapıldı. Oksidaz testi negatif olan koloniler laboratuvarda hazırlanan TSI, LIA, MIO (motilite, indol, ornitin), sitrat besiyeri, üre besiyerine ekildi ve 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. Laktoz (-), glukoz (+), H_2S (+), sitrat (+), lizin dekarboksilaz (+), üre (-), motilite (+), indol (-) olarak saptanan suşlar aynı zamanda MALDI-TOF MS ile de tanımlandı ve *Salmonella* spp. olarak belirlendi. Laktoz (-), glukoz (+), H_2S (-), sitrat (-), lizin dekarboksilaz (-), üre (-), motilite (-), indol (+/-) olarak saptanan suşlar *Shigella* spp. olarak belirlendi. *Salmonella*

spp./*Shigella* spp. olarak tanımlanan bu bakteriler, antiserum ile aglütinasyon testi yapılarak serolojik olarak gruplandırıldı (63).

3.4.3. Matriks Aracılı Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi ile Bakteri İdentifikasyonu

MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Microflex LT^{TM}, Almanya) yöntemi ile cins ve tür tanımlaması yapıldı. Tanımlama için iki yöntem kullanıldı:

A) Doğrudan Transfer Yöntemi: Besiyerindeki kolonilerden bir parça alınarak 96 küçük dairesel bölümden oluşan test plağına (target plak), dairesel bölüm dışına taşmayacak şekilde ince bir tabaka halinde yayıldı. Örnek kurutulduktan sonra, "% 50 acetonitrile/% 2,5 trifluoro-acetic acid" standart solüsyonu içinde 10 mg/ml konsantrasyonunda CHCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid) içeren matriks solüsyonundan 1 µl damlatıldıktan sonra oda havasında kurumaya bırakıldı. Hazırlanan test plağı analiz için cihaza yüklendi.

B) Genişletilmiş Doğrudan Transfer Yöntemi: Doğrudan transfer yönteminde ≥2,0 skoru ile sonuç alınamayan örnekler için genişletilmiş doğrudan transfer yöntemi uygulandı. Koloniler test plağına, dairesel bölüm dışına taşmayacak şekilde ince bir tabaka halinde yayıldı. Hücre duvarını parçalamak amacıyla 1 µl % 70'lik formik asit çözeltisi damlatıldıktan sonra kurumaya bırakıldı ve sonra matriks damlatıldı. Hazırlanan test plağı analiz için cihaza yüklendi.

Bütün MALDI-TOF MS ölçümleri, Bruker Microflex LT model MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı için geliştirilmiş FlexControl 3.4 yazılımı (Bruker Daltonics, Almanya) kullanılarak yapıldı. Cihaz, lineer pozitif iyon modunda, 2000-20.000 Da kütle aralığında, 60 Hertz (Hz)'lik lazer frekansında olacak şekilde mikroorganizma tanımlanması için ayarlanarak ölçümler gerçekleştirildi. Cihaza, her bir izolat için, toplamda 240 atış olacak şekilde 40'arlı paketlerden oluşan lazer atışı yaptırılarak spektrumlar oluşturuldu (181).

3.4.4. Serotiplendirme

Biyokimyasal testler ve MALDI-TOF MS ile *Salmonella* spp. olarak tanımlanan suşlara serotiplendirme yapıldı. *Salmonella* Poli A (OMA) (O:1, 2, 12 + 4, 5, 12 + 9, 12 +

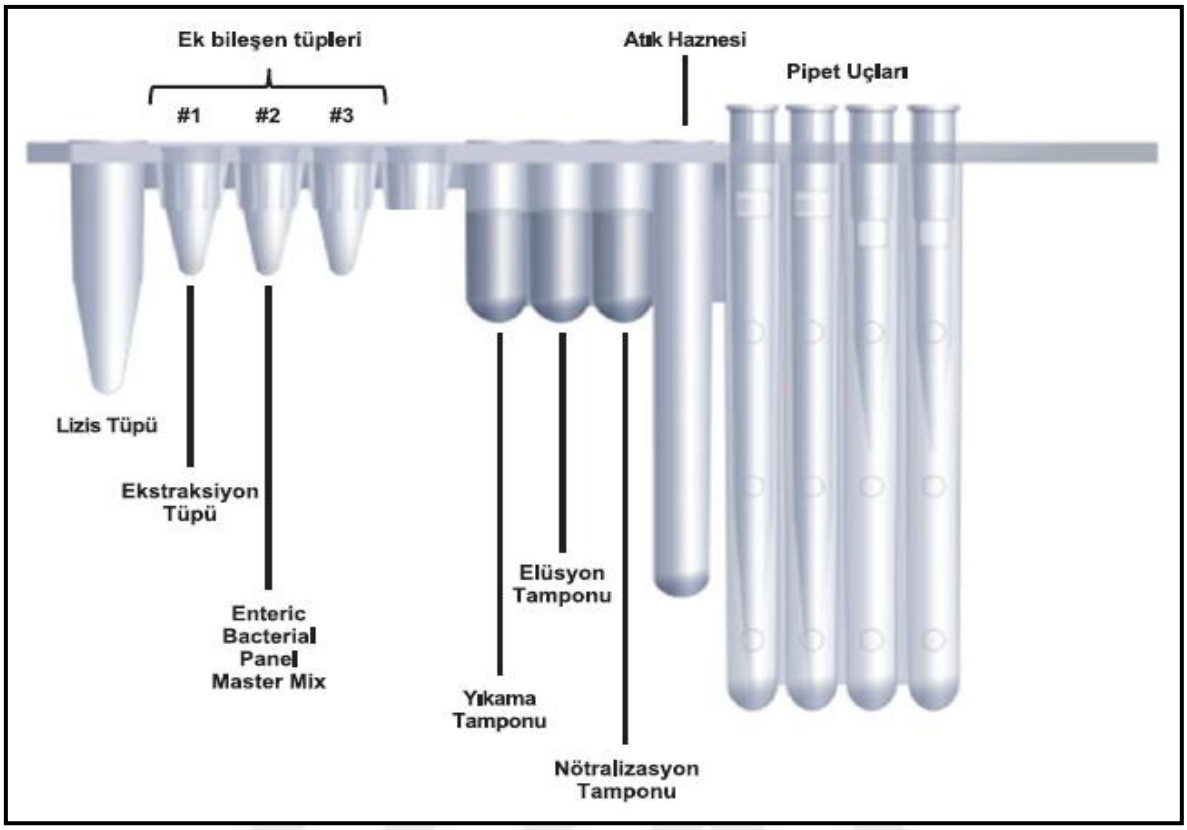
9, 46 + 3, 10 + 1, 3, 19 + 21) ve *Salmonella* Poli B (OMB) (O: 6, 7 + 6, 8 + 8, 20 + 11 + 13, 23 + 6, 14, 24) antiserumları ile üretici firmanın (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) Antiserumları) önerileri doğrultusunda lam aglütinasyon testi yapıldı. O Grup antiserumları ile serogrup belirlendi. Serotip tayini için *Salmonella* H faktör antiserumları (a, b, c, d) kullanılarak lam aglütinasyon testi yapıldı.

Biyokimyasal testler ile *Shigella* spp. olarak tanımlanan suşlara polivalan ve monovalan özellikteki antiserumlar ile üretici firmanın (THSK Antiserumları) önerileri doğrultusunda lam aglütinasyon testi uygulanarak serotiplendirme yapıldı.

3.5. BD MAX EBP

Tüm dışkı örnekleri multipleks gerçek zamanlı PZR yöntemi ile çalışan BD MAX EBP ile değerlendirildi.

Dışkı örnekleri BD MAX EBP ile çalışılırken; temiz, kuru, sıkı kapaklı, sızdırmayan, kaşıklı dışkı kabında laboratuvara kabul edilen yumuşak veya sulu kıvamdaki dışkı örnekleri daha sonra çalışılmak üzere +4°C'de saklandı. Gün sonunda her bir dışkıdan cihaza verilmek üzere örnekler hazırlandı. Test edilecek her örnek için bir örnek tampon tüpü, bir septum kapağı, bir master miks, bir ekstraksiyon tüpü ve bir ünitelendirilmiş reaktif stribi kullanıldı (Şekil 3). 10 µL öze ile bir öze dolusu dışkı örneği BD MAX örnek tampon tüpüne aktarıldı. Örnek tampon tüpü bir septum kapağıyla kapatılarak vortekslendi. BD MAX EBP kitinden gerekli sayıda ünitelendirilmiş reaktif stribi raka yerleştirildi. Master miks tüpü ve ekstraksiyon tüpü ünitelendirilmiş reaktif stribi üzerindeki pozisyonlarına oturtuldu. Örnek tampon tüpleri barkodları dışa bakacak şekilde raflara yerleştirildi. Hazırlanan hasta örneklerinin ve her bir örnek tampon tüpünün barkodları BD MAX EBP yazılımının bulunduğu bilgisayarda okutularak bilgiler sisteme yüklendi. BD MAX PZR kartuşu ve örnekler cihaza yerleştirilerek cihazın kapağı kapatıldı ve çalışma başlatıldı. Ortalama üç saat sonra cihazın çalışma süresi bittiğinde her bir örnek için cihazın verdiği sonuçlar kayıt altına alındı (85).



Şekil 3. BD MAX EBP için geliştirilen ünitelendirilmiş reaktif stribi (85 numaralı kaynaktan alınmıştır)

3.6. İstatistik Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi, Fisher'sExact Ki-Kare testi, Continuity (Yates) Düzeltmesi ve McNemar testi kullanıldı. Duyarlılık, özgüllük hesaplamalarında tanı tarama testlerinden yararlanıldı. Anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışma Ağustos 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında 140'ı kadın (% 47,9), 152'si erkek (% 52,1), 97'si çocuk (<18 yaş) (% 33,2) ve 195'i yetişkin (≥18 yaş) (% 66,8) olmak üzere toplam 292 hasta ile yapılmıştır. Çalışmadaki hastalar, 220'si dışkı örneklerini korumasız dışkı kaplarında getirenler ve 72'si Cary-Blair taşıma besiyerinde getirenler olmak üzere iki ayrı gruba ayrılmıştır. Örneklerini korumasız dışkı kabında getiren grubun 109'u kadın (% 49,5), 111'i erkek (% 50,5), 62'si çocuk (<18 yaş) (% 28,2) ve 158'i yetişkindir (≥18 yaş) (% 71,8). Örneklerini taşıma besiyerinde getiren grubun ise 31'i kadın (% 43,1), 41'i erkek (% 56,9), 35'i çocuk (<18 yaş) (% 48,6) ve 37'si yetişkindir (≥18 yaş) (% 51,4). Olguların 191'i (% 65,4) antibiyotik kullanmışken, 101'i (% 34,6) antibiyotik kullanmamıştır.

Hastaların yaşları 0 ile 89 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 31,32±23,58'dir. Kadınların % 25,7'si 18 yaş altında iken, % 74,3'ü 18 yaş ve üzerindedir. Erkeklerin % 40,1'i 18 yaş altında iken, % 59,9'u 18 yaş ve üzerindedir (Tablo 24).

Tüm hastalar için kültür sonuçları incelendiğinde, hastaların altısında (% 2,1) *Campylobacter,* ikisinde (% 0,7) *Salmonella,* birinde (% 0,3) *Shigella* tespit edilmiştir. Tüm hastalar için BD MAX EBP sonuçları incelendiğinde, hastaların 22 (% 7,5)'sinde *Campylobacter,* beşinde (% 1,7) *Salmonella,* 19 (% 6,5)'unda *Shigella* tespit edilmiştir.

Korumasız dışkı kabında gelen örneklerin kültür sonuçları incelendiğinde, hastaların birinde (% 0,5) *Campylobacter*, birinde (% 0,5) *Shigella* tespit edilirken, hiçbir hastada *Salmonella* tespit edilmemiştir. Aynı örnekler için BD MAX EBP sonuçları incelendiğinde, hastaların dokuzunda (% 4,1) *Campylobacter*, üçünde (% 1,4) *Salmonella,* 19 (% 8,6)'unda *Shigella* tespit edilmiştir.

Taşıma besiyerinde gelen örnekler için kültür sonuçları incelendiğinde, hastaların beşinde (% 6,9) *Campylobacter*, ikisinde (% 2,8) *Salmonella* tespit edilirken, hiçbir hastada *Shigella* tespit edilmemiştir. Aynı örnekler için BD MAX EBP sonuçları incelendiğinde, hastaların 13 (% 18,1)'ünde *Campylobacter*, ikisinde (% 2,8) *Salmonella* tespit edilirken, hiçbir hastada *Shigella* tespit edilmemiştir.

Tablo 24. Hastalara Ait Genel Özelliklerin Dağılımı

			Min-Max	**Ort±SS**
Yaş (yıl)			0-89	31,32±23,58
			n	**%**
Cinsiyet	**Kadın**	**<18 yaş**	36	25,7
		≥18 yaş	104	74,3
	Erkek	**<18 yaş**	61	40,1
		≥18 yaş	91	59,9
Kültür sonuçları (Tüm Hastalar İçin)	***Campylobacter***	**Pozitif**	6	2,1
		Negatif	286	97,9
	Salmonella	**Pozitif**	2	0,7
		Negatif	290	99,3
	Shigella	**Pozitif**	1	0,3
		Negatif	291	99,7
BD MAX EBP Sonuçları (Tüm Hastalar İçin)	***Campylobacter***	**Pozitif**	22	7,5
		Negatif	270	92,5
	Salmonella	**Pozitif**	5	1,7
		Negatif	287	98,3
	Shigella	**Pozitif**	19	6,5
		Negatif	273	93,5
Kültür sonuçları (Korumasız Dışkı Kabında Gelen)	***Campylobacter***	**Pozitif**	1	0,5
		Negatif	219	99,5
	Salmonella	**Pozitif**	0	0
		Negatif	220	100
	Shigella	**Pozitif**	1	0,5
		Negatif	219	99,5
BD MAX EBP Sonuçları (Korumasız Dışkı Kabında Gelen)	***Campylobacter***	**Pozitif**	9	4,1
		Negatif	211	95,9
	Salmonella	**Pozitif**	3	1,4
		Negatif	217	98,6
	Shigella	**Pozitif**	19	8,6
		Negatif	201	91,4
Kültür sonuçları (Taşıma Besiyerinde Gelen)	***Campylobacter***	**Pozitif**	5	6,9
		Negatif	67	93,1
	Salmonella	**Pozitif**	2	2,8
		Negatif	70	97,2
	Shigella	**Pozitif**	0	0
		Negatif	72	100
BD MAX EBP Sonuçları (Taşıma Besiyerinde Gelen)	***Campylobacter***	**Pozitif**	13	18,1
		Negatif	59	81,9
	Salmonella	**Pozitif**	2	2,8
		Negatif	70	97,2
	Shigella	**Pozitif**	0	0
		Negatif	72	100

Tablo 25. Hastaların Başvurdukları Klinik/Polikliniklerin Dağılımı

	n	%
Acil Çocuk Polikliniği	14	4,8
Acil Tıp Sarı Alan	4	1,4
Acil Tıp Yeşil Alan	1	0,3
Aile Hekimliği Polikliniği	32	11,0
Böbrek Nakil Hasta Takip Polikliniği	1	0,3
Büyük Enfeksiyon Kliniği	7	2,4
Büyük Enfeksiyon Polikliniği	18	6,2
Çocuk Alerji Ve İmmünoloji Polikliniği	5	1,7
Çocuk Cerrahisi Kliniği	2	0,7
Çocuk Enfeksiyon Kliniği	6	2,1
Çocuk Enfeksiyon Yan Dal Pol	2	0,7
Çocuk Gastro Polikliniği	4	1,4
Çocuk Kliniği	5	1,7
Çocuk Nefroloji Polikliniği	1	0,3
Çocuk Onkoloji Kliniği	11	3,8
Çocuk Onkoloji Polikliniği	1	0,3
Çocuk Polik.	19	6,5
Çocuk S. Ve Aşı Merkezi	1	0,3
Dahiliye Kliniği	9	3,1
DahiliyePolikliniği	72	24,7
Diyabet Polikliniği	2	0,7
Gastro Polikliniği	15	5,1
Gastroenteroloji Kliniği	12	4,1
Gastroenteroloji Kontrol Polikliniği	3	1,0
Genel Cerrahi Kliniği	3	1,0
Genel Cerrahi Polikliniği	2	0,7
Genel Pediatri Eğitim Polikliniği	6	2,1
Genel Pediatri Kliniği	10	3,4
Gümüşsuyu Dahiliye Polk	4	1,4
Hemodiyaliz Ünitesi	1	0,3
K.Doğum Polikliniği	1	0,3
Kalp Damar Cerrahisi Polikliniği	1	0,3
Koroner Yoğun Bakım	1	0,3
Nefroloji Kliniği	5	1,7
Nefroloji Polikliniği	1	0,3
Nöroloji Kliniği	2	0,7
Ortopedi Kliniği	1	0,3
Psikiyatri Kliniği	1	0,3
Radyasyon Onk. Kliniği	1	0,3
Tıbbi Onkoloji Polikliniği	1	0,3
Üroloji Polikliniği	1	0,3
Yenidoğan Yoğun Bakım	3	1,0
Total	292	100,0

4.1. Makroskobik Bulgular

Tüm hastaların dışkıları makroskobik olarak değerlendirildi. Bunlardan 28 tanesi sulu, 264 tanesi yumuşak kıvamdaydı. 292 dışkının 4 tanesi kanlı, 24 tanesi mukuslu, 5 tanesi de hem kanlı hem mukusluydu. Kanlı olan ve hem kanlı hem de mukuslu olan dışkılarda kültür ve BD MAX EBP ile bakteri tespit edilemedi. Mukuslu olan dışkılarda kültürde bakteri üremesi yokken, BD MAX EBP ile bir tane *Campylobacter* ve bir tane de *Shigella* bulunmuştur.

4.2. Mikroskobik Bulgular

Tablo 26. Kültür Yöntemi ile Değerlendirilen Tüm Hastaların Mikroskobi Sonuçları

	Campylobacter	***Salmonella***	***Shigella***	**Kültür (-)**	**Toplam**
Eritrosit (+)	1	-	-	5	6
Lökosit (+)	1	1	-	17	19
Eritrosit (+) Lökosit (+)	-	-	-	14	14
Eritrosit (-) Lökosit (-)	4	1	1	247	253
Toplam	6	2	1	283	292

Tablo 27. BD MAX EBP ile Değerlendirilen Tüm Hastaların Mikroskobi Sonuçları

	Campylobacter	***Salmonella***	***Shigella***	**BD MAX EBP (-)**	**Toplam**
Eritrosit (+)	1	-	2	4	7
Lökosit (+)	6	1	2	10	19
Eritrosit (+) Lökosit (+)	-	-	-	14	14
Eritrosit (-) Lökosit (-)	15	4	15	218	252
Toplam	22	5	19	246	292

4.3. Dışkı Havuzlama Çalışması

Tablo 28. Dışkı Havuzlama Tablosu

		Campylobacter	*Salmonella*	*Shigella*
10^6 CFU/mL	**KÜLTÜR**	+	+	+
	BD MAX	+	+	+
10^5 CFU/ mL	**KÜLTÜR**	+	+	+
	BD MAX	+	+	+
10^4 CFU/ mL	**KÜLTÜR**	-	+	-
	BD MAX	+	+	+
10^3 CFU/ mL	**KÜLTÜR**	-	-	-
	BD MAX	+	-	+
10^2 CFU/ mL	**KÜLTÜR**	-	-	-
	BD MAX	-	-	-
10^1 CFU/ mL	**KÜLTÜR**	-	-	-
	BD MAX	-	-	-

Campylobacter, *Salmonella* ve *Shigella* bakterilerinin her biri için 10^6-10^1 CFU/mL arasındaki konsantrasyonlarda hazırlanmış dışkı örnekleri ile yapılmış olan dışkı havuzlama çalışmasında, her bir örneğin kültür ve BD MAX EBP sonuçları tablo 28'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *Campylobacter* için, kültürde 10^5 CFU/mL'ye kadar üreme tespit edilmişken, BD MAX EBP'de ise 10^3 CFU/mL konsantrasyonuna kadar pozitiflik saptanmıştır. *Salmonella* için, kültür ve BD MAX EBP'nin her ikisinde de 10^4 CFU/mL konsantrasyonlarına kadar pozitiflik tespit edilmiştir. *Shigella* için ise, kültürde 10^5 CFU/mL'ye kadar üreme tespit edilmişken, BD MAX EBP'de 10^3 CFU/mL konsantrasyonuna kadar pozitiflik saptanmıştır.

4.4. Kültür ve BD MAX EBP Sonuçları

Tüm hastalar için cinsiyetlere göre kültür ve BD MAX EBP pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). Testlerin cinsiyetlere göre pozitiflik oranları ve sayıları tablo 29'da gösterilmiştir.

Tablo 29. Tüm Hastalar İçin Cinsiyetlere Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

			Cinsiyet		**p**
			Erkek	**Kadın**	
			n (%)	**n (%)**	
Kültür Sonuçları		**Pozitif**	5 (%3,3)	4 (%2,9)	[1]**1,000**
		Negatif	147 (%96,7)	136 (%97,1)	
Kültür Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	3 (%2,0)	3 (%2,1)	[1]**1,000**
		Negatif	149 (%98)	137 (%97,9)	
	Salmonella	**Pozitif**	1 (%0,7)	1 (%0,7)	[1]**1,000**
		Negatif	151 (%99,3)	139 (%99,3)	
	Shigella	**Pozitif**	1 (%0,7)	0 (%0)	[1]**1,000**
		Negatif	151 (%99,3)	140 (%100)	
BD MAX EBP Sonuçları		**Pozitif**	23 (%15,1)	22 (%15,7)	[2]**0,890**
		Negatif	129 (%84,9)	118 (%84,3)	
BD MAX EBP Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	14 (%9,2)	8 (%5,7)	[3]**0,363**
		Negatif	138 (%90,8)	132 (%94,3)	
	Salmonella	**Pozitif**	2 (%1,3)	3 (%2,1)	[1]**0,673**
		Negatif	150 (%98,7)	137 (%97,9)	
	Shigella	**Pozitif**	8 (%5,3)	11 (%7,9)	[3]**0,509**
		Negatif	144 (%94,7)	129 (%92,1)	

[1]*Fisher's Exact Test* [2]*Ki-kare test* [3]*Continuity (yates) düzeltmesi*

Tüm hastaların antibiyotik kullanımına göre kültürde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* pozitifliği görülme oranları arasında ve antibiyotik kullanımına göre BD MAX EBP sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). Tüm hastaların antibiyotik kullanımına göre kültür testi ve BD MAX EBP sonuçları tablo 30'da gösterilmiştir.

Tablo 30. Tüm Hastaların Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

			Antibiyotik		
			Var	**Yok**	**P**
			n (%)	**n (%)**	
Kültür Sonuçları		**Pozitif**	6 (%3,1)	3 (%3,0)	[1]**1,000**
		Negatif	185 (%96,9)	98 (%97,0	
Kültür Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	3 (%1,6)	3 (%3,0)	[1]**0,420**
		Negatif	188 (%98,4)	98 (%97,0)	
	Salmonella	**Pozitif**	2 (%1,0)	0 (%0)	[1]**0,546**
		Negatif	189 (%99,0)	101 (%100)	
	Shigella	**Pozitif**	1 (%0,5)	0 (%0)	[1]**1,000**
		Negatif	190 (%99,5)	101 (%100)	
BD MAX EBP Sonuçları		**Pozitif**	26 (%13,6)	19 (%18,8)	[3]**0,317**
		Negatif	165 (%86,4)	82 (%81,2)	
BD MAX EBP Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	12 (%6,3)	10 (%9,9)	[3]**0,378**
		Negatif	179 (%93,7)	91 (%90,1)	
	Salmonella	**Pozitif**	4 (%2,1)	1 (%1,0)	[1]**0,662**
		Negatif	187 (%97,9)	100 (%99,0)	
	Shigella	**Pozitif**	11 (%5,8)	8 (%7,9)	[3]**0,643**
		Negatif	180 (%94,2)	93 (%92,1)	

[1]*Fisher's Exact Test* [2]*Ki-kare test* [3]*Continuity (yates) düzeltmesi*

Örnekleri korumasız dışkı kabında gelen hasta grubunda; Antibiyotik kullanımına göre kültür pozitifliği ve BD MAX EBP sonuçlarında pozitiflik görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). Bu hasta grubunda antibiyotik kullanımına göre kültür testi ve BD MAX EBP sonuçları tablo 31'de gösterilmiştir.

Tablo 31. Örnekleri Koruması Dışkı Kabında Gelen Hasta Grubunda Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

			Antibiyotik		
			Var	**Yok**	**P**
			n (%)	**n (%)**	
Kültür Sonuçları		**Pozitif**	2 (%1,3)	0 (%0)	[1]**1,000**
		Negatif	151 (%98,7)	67 (%100)	
Kültür Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	1 (%0,7)	0 (%0)	[1]**1,000**
		Negatif	152 (%99,3)	67 (%100)	
	Salmonella	**Pozitif**	0 (%0)	0 (%0)	**-**
		Negatif	153 (%100)	67 (%100)	
	Shigella	**Pozitif**	1 (%0,7)	0 (%0)	[1]**1,000**
		Negatif	152 (%99,3)	67 (%100)	
BD MAX EBP Sonuçları		**Pozitif**	18 (%11,8)	12 (%17,9)	[3]**0,313**
		Negatif	135 (%88,2)	55 (%82,1)	
BD MAX EBP Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	6 (%3,9)	3 (%4,5)	[1]**1,000**
		Negatif	147 (%96,1)	64 (%95,5)	
	Salmonella	**Pozitif**	2 (%1,3)	1 (%1,5)	[1]**1,000**
		Negatif	151 (%98,7)	66 (%98,5)	
	Shigella	**Pozitif**	11 (%7,2)	8 (%11,9)	[3]**0,371**
		Negatif	142 (%92,8)	59 (%88,1)	

[1]*Fisher's Exact Test* [2]*Ki-kare test* [3]*Continuity (yates) düzeltmesi*

Örnekleri taşıma besiyerinde gelen hasta grubunda; antibiyotik kullanımına göre kültür pozitifliği ve BD MAX EBP sonuçlarında pozitiflik görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). Bu hasta grubunda antibiyotik kullanımına göre kültür testi ve BD MAX EBP sonuçları tablo 32'de gösterilmiştir.

Tablo 32. Örnekleri Taşıma Besiyerinde Gelen Hasta Grubunun Antibiyotik Kullanımına Göre Kültür Testi ve BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

			Antibiyotik		P
			Var	**Yok**	
			n (%)	**n (%)**	
Kültür Sonuçları		**Pozitif**	4 (%10,5)	3 (%8,8)	[1]**1,000**
		Negatif	34 (%89,5)	31 (%91,2)	
Kültür Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	2 (%5,3)	3 (%8,8)	[1]**0,662**
		Negatif	36 (%94,7)	31 (%91,2)	
	Salmonella	**Pozitif**	2 (%5,3)	0 (%0)	[1]**0,495**
		Negatif	36 (%94,7)	34 (%100)	
	Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	0 (%0)	-
		Negatif	38 (%100)	34 (%100)	
BD MAX EBP Sonuçları		**Pozitif**	8 (%11,8)	12 (%17,9)	[3]**1,000**
		Negatif	135 (%88,2)	55 (%82,1)	
BD MAX EBP Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	6 (%15,8)	7 (%20,6)	[3]**0,825**
		Negatif	32 (%84,2)	27 (%79,4)	
	Salmonella	**Pozitif**	2 (%5,3)	0 (%0)	[3]**0,495**
		Negatif	36 (%94,7)	34 (%100)	
	Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	0 (%0)	-
		Negatif	38 (%100)	34 (%100)	

[1]*Fisher's Exact Test* [2]*Ki-kare test* [3]*Continuity (yates) düzeltmesi*

Tüm hastalarda; kültür sonucu *Campylobacter* ve *Shigella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmişken (p:0,001; p<0,05), Salmonella için anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p:0,250; p>0,05) (Tablo 33).

Tablo 33. Tüm Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

BD MAX EBP Sonucu		**Kültür sonucu**			***P***
		Pozitif	**Negatif**	***Toplam***	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Campylobacter	**Pozitif**	6 (%2,1)	16 (%5,5)	22 (%7,5)	**0,001***
	Negatif	0 (%0)	270 (%92,5)	270 (%92,5)	
	Toplam	6 (%2,1)	286 (%97,9)	292 (%100)	
Salmonella	**Pozitif**	2 (%0,7)	3 (%1,0)	5 (%1,7)	**0,250**
	Negatif	0 (%0)	287 (%98,3)	287 (%98,3)	
	Toplam	2 (%0,7)	290 (%99,3)	292 (%100)	
Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	19 (%6,5)	19 (%6,5)	**0,001***
	Negatif	1 (%0,3)	272 (%93,2)	273 (%93,5)	
	Toplam	1 (%0,3)	291 (%99,7)	292 (%100)	

McNemar Test ** p<0,05*

Korumasız dışkı kabında gelen örnekler için; kültür sonucu *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,008; p<0,05). Kültür sonucu *Salmonella* pozitifliği görülmezken; BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 1,4'tür. Kültür sonucu *Shigella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,001; p<0,05) (Tablo 34).

Tablo 34. Korumasız Dışkı Kabında Gelen Örnekler İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

BD MAX EBP Sonucu		**Kültür sonucu**			***P***
		Pozitif	**Negatif**	***Toplam***	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Campylobacter	**Pozitif**	1 (%0,5)	8 (%3,6)	9 (%4,1)	**0,008***
	Negatif	0 (%0)	211 (%95,9)	211 (%95,92)	
	Toplam	1 (%0,5)	219 (%99,5)	220 (%100)	
Salmonella	**Pozitif**	0 (%0)	3 (%1,4)	3 (%1,4)	-
	Negatif	0 (%0)	217 (%98,6)	217 (%98,6)	
	Toplam	0 (%0)	220 (%100)	220 (%100)	
Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	19 (%8,6)	19 (%8,6)	**0,001***
	Negatif	1 (%0,5)	200 (%90,9)	201 (%91,4)	
	Toplam	1 (%0,5)	219 (%99,5)	220 (%100)	

McNemar Test ** p<0,05*

Taşıma besiyerinde gelen dışkı örnekleri için, kültür sonucu *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,008; p<0,05). Kültür sonucu *Salmonella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p:1,000; p>0,05). Hem kültür hem de BD MAX EBP sonucunda *Shigella* pozitifliği görülmemiştir (Tablo 35).

Tablo 35. Taşıma Besiyerinde Gelen Dışkı Örnekleri İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

BD MAX EBP Sonucu		**Kültür sonucu**			***P***
		Pozitif	**Negatif**	***Toplam***	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Campylobacter	**Pozitif**	5 (%6,9)	8 (%11,1)	13 (%18,1)	**0,008***
	Negatif	0 (%0)	59 (%81,9)	59 (%81,9)	
	Toplam	5 (%6,9)	67 (%93,1)	72 (%100)	
Salmonella	**Pozitif**	2 (%2,8)	0 (%0)	2 (%2,8)	**1,000**
	Negatif	0 (%0)	70 (%97,2)	70 (%97,2)	
	Toplam	2 (%2,8)	70 (%97,2)	72 (%100)	
Shigella	**Pozitif**	-	-	-	**-**
	Negatif	-	72 (%100)	72 (%100)	
	Toplam	-	72 (%100)	72 (%100)	

McNemar Test ** p<0,05*

Antibiyotik kullanan 191 hastada; kültür sonucu *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,004; p<0,05). Kültür sonucu *Salmonella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p:0,500; p>0,05). Kültür sonucu *Shigella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,006; p<0,05) (Tablo 36).

Tablo 36. Antibiyotik Kullanan Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Antibiyotik Kullanan Hastalar	**BD MAX EBP Sonucu**	**Kültür sonucu**			***P***
		Pozitif	**Negatif**	***Toplam***	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Campylobacter	**Pozitif**	3 (%1,6)	9 (%4,7)	12 (%6,3)	**0,004***
	Negatif	0 (%0)	179 (%93,7)	179 (%93,7)	
	Toplam	3 (%1,6)	188 (%98,4)	191 (%100)	
Salmonella	**Pozitif**	2 (%1,0)	2 (%1,0)	4 (%2,1)	**0,500**
	Negatif	0 (%0)	187 (%97,9)	187 (%97,9)	
	Toplam	2 (%1,0)	189 (%99,0)	191 (%100)	
Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	11 (%5,8)	11 (%5,8)	**0,006***
	Negatif	1 (%0,5)	179 (%93,7)	180 (%94,2)	
	Toplam	1 (%0,5)	190 (%99,5)	191 (%100)	

McNemar Test ** p<0,05*

Antibiyotik kullanmayan 101 hastada; kültür sonucu *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,016; p<0,05) (Tablo 37).

Tablo 37. Antibiyotik Kullanmayan Hastalar İçin Kültür Sonuçlarına Göre BD MAX EBP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Antibiyotik Kullanmayan Hastalar	**BD MAX EBP Sonucu**	**Kültür sonucu**			***P***
		Pozitif	**Negatif**	***Toplam***	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Campylobacter	**Pozitif**	3 (%3,0)	7 (%6,9)	10 (%9,9)	**0,016***
	Negatif	0 (%0)	91 (%90,1)	91 (%90,1)	
	Toplam	3 (%3,0)	98 (%97,0)	101 (%100)	
Salmonella	**Pozitif**	0 (%0)	1 (%1)	1 (%1)	-
	Negatif	0 (%0)	199 (%99)	199 (%99)	
	Toplam	0 (%0)	101 (%100)	101 (%100)	
Shigella	**Pozitif**	0 (%0)	8 (%7,9)	8 (%7,9)	-
	Negatif	0 (%0)	93 (%92,1)	93 (%92,1)	
	Toplam	0 (%0)	101 (%100)	101 (%100)	

McNemar Test ** p<0,05*

Taşıma besiyerinde gelen örneklerde kültür pozitifliği görülme oranı (% 9,7), korumasız dışkı kabından (% 0,9) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,001; p<0,05). Korumasız dışkı kabında ve taşıma besiyerinde gelen dışkı örneklerinin kültür testi sonuçları tablo 38'de gösterilmektedir.

Tablo 38. Korumasız Dışkı Kabında ve Taşıma Besiyerinde Gelen Dışkı Örneklerinin Kültür Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

			Korumasız Dışkı Kabı	Taşıma Besiyeri	P
			n (%)	**n (%)**	
Kültür Sonuçları		**Pozitif**	2 (%0,9)	7 (%9,7)	**[1]0,001***
		Negatif	218 (%99,1)	65 (%90,3)	
Kültür Sonuçlarının Dağılımı	***Campylobacter***	**Pozitif**	1 (%0,5)	5 (%6,9)	**[1]0,004***
		Negatif	219 (%99,5)	67 (%93,1)	
	Salmonella	**Pozitif**	0 (%0)	2 (%2,8)	**[1]0,060**
		Negatif	220 (%100)	70 (%97,2)	
	Shigella	**Pozitif**	1 (%0,5)	0 (%0)	**[1]1,000**
		Negatif	219 (%99,5)	72 (%100)	

[1]Fisher's Exact Test *[2]Ki-kare test* *[3]Continuity (yates) düzeltmesi*

5. TARTIŞMA

Enfeksiyöz ishalli hastalıklar, tüm dünyada en sık görülen ikinci morbidite ve mortalite nedenidirler. Tüm dünyada her yıl yaklaşık 1,7 milyar diyare vakası görülmektedir (130). Bakteriyel gastroenteritler, bu hastalıklar arasında önemli bir yer tutan, dünya genelinde yaygın bir halk sağlığı problemidir (137). Çoğu, kontamine gıdalar ve su kaynakları aracılığıyla oluşan bakteriyel gastroenterit etkenlerinin önemli bir kısmını *Salmonella, Shigella, Campylobacter* ve *E. coli* gibi enfeksiyon ajanları oluşturmaktadır (1, 5). Gelişmemiş ülkelerde ishalli hastalıklar nedeniyle yüksek mortalite oranları görülmekte, ayrıca çocuklarda yetersiz beslenme, yavaşlamış büyüme ve bilişsel gelişim bozukluğu gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (1, 16). Bu nedenle, bakteriyel gastroenterite neden olan etkenlerin tespiti ve tanımlanması; bu hastalıklara yakalanan kişilerin bireysel tedavilerinde etkin rol oynadığı gibi, toplum sağlığı açısından da ishalli hastalıklara yaklaşımda büyük önem arz etmektedir (182).

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tanısında kullanılan, çok çeşitli yöntemler bulunmaktadır (130). Günümüzde konvansiyonel kültür yöntemleri, bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tanısında hala altın standart olarak kabul edilmektedir (182). *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. ve *Vibrio* spp. gibi bakterilerin tanımlanması için geliştirilmiş çok sayıda seçici besiyeri bulunmaktadır. Ayrıca, dışkı kültürü; antimikrobiyal tedavilerin belirlenmesinde ve salgın durumlarında epidemiyolojik analizler için oldukça uygun ve gerekli yöntemlerdir (130). Bununla birlikte, dışkı kültürünün kullanımıyla ilgili bazı olumsuz durumlar bulunmaktadır. Her bir bireyin dışkısında bulunan bakteri popülasyonu oldukça değişkenlik göstermekte, antibiyotik kullanımı ve inflamasyon gibi durumlardan etkilenebilmektedir. Normal dışkı florasında bulunan bakterilerin çeşitliliği ve farklı miktarlarda bulunabilmeleri gibi nedenlerle, patojen organizmaları izole etmek zorlaşmaktadır (183, 184). Dışkı kültürünün tanısal duyarlılığı oldukça düşüktür, sonuç verme süresi günler almakta ve laboratuvarlardaki iş yükünü önemli ölçüde artırmaktadır (182). Guerrant ve arkadaşlarının yayınladıkları bir araştırmada, enterik patojenler olan *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. ve EHEC'in, dışkı kültürlerinden izole edilme oranlarının % 1,5 gibi oldukça düşük bir düzeyde olduğu gösterilmiştir (130).

Düşük tanısal duyarlılıkları nedeniyle kültüre alternatif olacak çeşitli yöntem arayışlarına gidilmiş ve bu amaçla, dışkı örneklerinde enterik bakteriyel patojenlerin tespitini yapabilen, çok sayıda yeni moleküler tanı yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin özgüllüklerinin ve tanısal duyarlılıklarının konvansiyonel kültür yöntemlerinden çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (137). Moleküler yöntemler, çok sayıda patojeni belirleyebilmeleri ve hızlı sonuç verebilmeleri nedeniyle klinik açıdan da önemli avantajlar sağlamaktadır (185). Konvansiyonel yöntemlerin düşük tanı oranları nedeniyle ve tanısal duyarlılığın artırılmasına olan ihtiyaç nedeniyle, moleküler tanı yöntemleri gastroenterit etkenlerinin belirlenmesi adına oldukça umut verici olmaktadır (75).

Bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespiti için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri PZR'dir. Etyolojik ajanları tespit etmek ve tanımlamak için nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinin kullanılması, gastroenterit vakalarının laboratuvar tanı süreci, klinik yaklaşım ve epidemiyolojik verilerin elde edilmesi gibi alanlarda oldukça önemli değişiklikler meydana getirmiştir (182). Bu amaçla piyasaya sürülen çok sayıda ticari ürün bulunmakta ve bu ürünlerin saptayabildiği patojen sayıları, belirleyebildikleri genetik hedefler, genel tasarımları ve sonuç verimlilikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır (75). Bu ürünler arasında, korumalı veya korumasız dışkı örneklerinde işlem yapabilen, FDA tarafından onaylanmış, multipleks PZR temelinde çalışan bir panel olan BD MAX EBP; *Salmonella* spp., *Shigella* spp./ EIEC, *Campylobacter* spp. ve Shiga benzeri toksin genlerinin (*stx1* ve / veya *stx2*) tespiti için tasarlanmıştır (137). Bizim çalışmamızda, gastroenterit etyolojisinde önemli bir yeri bulunan bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespitinde, hızlı tanı yöntemlerinin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanımının yaygınlaştırılması adına, hızlı tanı amacıyla kullanıma sunulan BD MAX EBP ile standart yöntem olan kültürün etkinliği karşılaştırılmıştır.

Dünyada ve ülkemizde yapılan pek çok çalışmada, bakteriyel gastroenterit etkenlerinin kültürde üreme oranlarının birbirlerinden farklılık gösterdikleri görülmektedir. 1983'de Blaser ve arkadaşları tarafından yapılan, sekiz laboratuvarın katıldığı bir çalışmada 8.097 dışkı örneğine kültür yapılmış ve % 1,3-7,9 aralığındaki oranlarda *Salmonella*; 0,3-4,4 aralığındaki oranlarda *Shigella* saptanmıştır (186). ABD'de 1997 yılında yapılan FoodNet çalışmasında, 264 laboratuvarda rutin dışkı kültürü amacıyla gönderilen 233.212 dışkı örneği incelenmiş olup, *Salmonella* ve *Shigella*'nın kültürde

üreme oranlarının sırasıyla % 0,9 ve % 0,6 olduğu gösterilmiştir (184). Baffone ve arkadaşlarının 2001 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada 606 ishalli hastada % 5,6 oranında *Salmonella*, % 0,3 oranında *Shigella* tespit edilmiştir (187). Yunanistan'da Maraki ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları beş yıllık çalışmada akut ishalli 7090 hastada *Salmonella* ve *Shigella* sırasıyla % 6 ve % 0,5 oranlarında bulunmuştur (188). Bakıcı ve arkadaşlarının 2001 yılında İstanbul'da yaptıkları çalışmada 1.201 hastanın dışkı kültürlerinden % 2,74 (33 vaka) *Salmonella* ve % 0,91 (11 vaka) *Shigella* saptanmıştır (189). Kanan ve Akşit'in 2003 yılında Eskişehir'de yaptıkları çalışmada 367 ishalli hastanın % 0,81'inde (3 vaka) *Shigella* ve % 3,26'sında (12 vaka) *Salmonella* tespit edilmiştir (190). Yılmaz ve Tuğrul'un 2005 yılında Edirne'de yaptıkları çalışmada 882 ishalli hasta örneğinin % 5'i (46 vaka) *Salmonella*, % 4'ü (36 vaka) *Shigella* bulunmuştur (191). Ülkemizde 1978-2005 yılları arasında yapılan 23 çalışmada *Salmonella* % 2-11, 1981-2005 yılları arasında yapılan 32 çalışmada *Shigella* % 2-9 oranlarında tespit edilmiştir (192). Yazıcı ve arkadaşlarının 2009 yılında Kocaeli ve Aydın'da yaptıkları çalışmada ishalli 200 hastada % 2,5 (5 vaka) oranında *Salmonella* saptanmış, hiç *Shigella* izole edilmemiştir (193).

Campylobacter kültürleri incelendiğinde, ABD'de 1997 yılında yapılan FoodNet (the Foodborne Diseases Active Surveillance Network) çalışmasında, 264 laboratuvarda rutin dışkı kültürü amacıyla gönderilen 233.212 dışkı örneği incelenmiş olup, *Campylobacter*'in kültürde üreme oranının % 1,4 olduğu gösterilmiştir (184). Yunanistan'da Maraki ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları beş yıllık çalışmada akut ishalli 7.090 hastanın % 4,2'sinde (301 vaka) *Campylobacter* (188), Baffone ve arkadaşlarının 2001 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada 606 ishalli hastada % 2,3 oranında *Campylobacter* (187), Feierl ve arkadaşlarının 1988-1993 yılları arasında Avusturya'da yaptıkları çalışmada 62.023 tane dışkı örneğinde % 2,59 (1.608 vaka) oranında *Campylobacter* (194), 1983'de Blaser ve arkadaşları tarafından yapılan, sekiz laboratuvarın katıldığı bir çalışmada 8.097 dışkı örneğine kültür yapılmış ve % 1,2-9,3 aralığındaki oranlarda *Campylobacter* saptanmıştır (186). Kayman ve arkadaşlarının 2013 yılında Kayseri'de yaptıkları çalışmada 3.287 ishalli hastanın % 5,4'ünde (179 vaka) *Campylobacter* (195), Yazıcı ve arkadaşlarının 2009 yılında Kocaeli ve Aydın'da yaptıkları çalışmada ishalli 200 hastada % 4,5 (9 vaka) oranında *Campylobacter* (193), Öngen ve arkadaşlarının 2007 yılında İstanbul'da yaptıkları çalışmada beş yıl içinde

değerlendirilen 6.835 dışkı örneğinde % 1,2 (82 vaka) oranında *Campylobacter* (196) saptanmıştır. Ülkemizde farklı şehirlerde 1986-2002 yılları arasında yapılan 20 çalışmada *Campylobacter* % 0-13 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir (192). Yılmaz ve Tuğrul'un 2005 yılında Edirne'de yaptıkları çalışmada 882 ishalli hasta örneğinin % 4'ünde (31 vaka) *Campylobacter* (191), Taş ve Ardıç'ın 2004 yılında Ankara'da yaptıkları çalışmada 200 ishalli olgunun % 3,5'inde (7 vaka) *Campylobacter* (197), Kanan ve Akşit'in 2003 yılında Eskişehir'de yaptıkları çalışmada 367 ishalli hastanın % 0,5 (2 vaka) oranında *Campylobacter* (190) saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda ise dışkı örnekleri iki grup halinde incelenmiştir. Birinci gruptaki dışkılar korumasız dışkı kaplarında, ikinci gruptaki dışkılar ise Cary-Blair taşıma besiyerlerinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Çalışmamızda korumasız kaplarda gelen 220 gastroenteritli dışkı örneğinde *Campylobacter* ve *Shigella*'nın kültürde üreme oranları sırasıyla % 0,5 (bir vaka) ve % 0,5 (bir vaka) olarak bulunurken, *Salmonella* hiç üretilememiştir. Cary-Blair taşıma besiyerlerinde gelen 72 örnekte *Campylobacter*'in kültürde üreme oranı % 6,9 (beş vaka), *Salmonella* % 2,8 (iki vaka) olarak bulunmuş, *Shigella* izole edilememiştir. Bu iki grup arasındaki farkın, dışkıların laboratuvara ulaştırılma koşullarındaki sorunlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Korumasız dışkı kaplarında gelen dışkı örneklerinin laboratuvara ulaştırılma süresinin iki saati aştığı durumlarda, patojenlerin izole edilmeleri zorlaşmaktadır. Bu yüzden korumasız kapta iki saatten fazla bekleyen dışkı örnekleri reddedilmektedir (63). Çalışmamızda ise hastaların dışkı örneklerini hangi koşullarda aldıkları ve örneklerin ne kadar süre sonra laboratuvara teslim edildikleri bilinmemektedir. Bu durum korumasız dışkı kaplarında gelen dışkı örnekleri için sorun teşkil ederken, Cary-Blair taşıma besiyerinde patojenlerin uzun süre yaşayabilmeleri nedeniyle, koruma maddesi içeren taşıma besiyerlerinde gelen dışkı örneklerinde gecikmeyle ilgili sorunlar ortadan kalkmaktadır. Cary-Blair taşıma besiyerine alınan dışkı örneklerinin +4°C'de ve oda sıcaklığındaki (24-26°C) yaşama süreleriyle ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Örneğin *C. jejuni* ile yapılan çalışmalarda, bu bakterinin oda sıcaklığında Cary-Blair taşıma besiyerinde, ortalama 1,3 gün içerisinde % 90'ının; 2,5 gün içerisinde de % 50'sinin canlı kalabildiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda Cary-Blair taşıma besiyerinde *Campylobacter*'lerin oda sıcaklığında 1-11 gün canlı kalabildiği gösterilmiştir (198). +4°C'de ise ortalama 2,6 gün içerisinde % 90'ının; 10 gün içerisinde de % 50'sinin canlı kalabildiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Campylobacter*'in,

Cary-Blair taşıma besiyerinde +4°C'de 2-21 gün yaşayabildiği gösterilmiştir (198). Çalışmamızdaki, taşıma besiyerinde gelen gruptaki üreme oranının korumasız dışkı kabında gelen gruptaki üreme oranından anlamlı derecede ($p<0,05$) farklı olması bu duruma bağlanabileneceği gibi, hasta gruplarının farklı hastalık profilleri nedeniyle rastlantısal da olabilir.

Chan ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada, pozitif kültür sonuçlarının 48-72 saat gibi geç sürelerde verilebilmesi nedeniyle, vakaların % 11,5'inin yanlış tedavi aldığı tespit edilmiştir. Kültür sonuçları ile bu hastalarda tedavi değişikliğine gidildiği gösterilmiştir (199). Bu örnekte olduğu gibi, patojenlerin erken tespiti gereksiz ve/veya yanlış tedavilerin önüne geçebilmektedir. Dışkı kültür yöntemlerinin, patojen tespit oranlarının düşük olması ve sonuç verme sürelerinin uzun olması gibi nedenlerden dolayı; yüksek duyarlılık, yüksek özgüllük ve birkaç saat gibi hızlı sonuç verme özellikleri bulunan multipleks PZR yöntemleri gastroenterit etkenlerinin tespiti amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (73-75). Brown ve arkadaşlarının 2016 yılında, 542 dışkı örneği ile yaptıkları bir çalışmada, hem kültürle, hem de BD MAX EBP ile *Salmonella, Shigella* ve *Campylobacter* varlığı araştırılmış ve kültür pozitif bütün örnekler BD MAX EBP'de de pozitif bulunmuştur. Kültürde 16 (% 2,9) *Campylobacter*, 7 (% 1,2) *Salmonella* ve 2 (% 0,4) *Shigella* pozitifliği; BD MAX EBP'de ise 23 (% 4,2) *Campylobacter*, 9 (% 1,6) *Salmonella* ve 3 (% 0,5) *Shigella* pozitifliği saptanmıştır (200). Wohlwend ve arkadaşlarının 2016 yılında 1.056 dışkı örneği ile yaptıkları bir çalışmada, BD MAX EBP ile 913 (% 86,5) örnek *Campylobacter, Salmonella* ve *Shigella*/EIEC açısından negatifken, 143 (% 13,5) örnek pozitif olarak tespit edilmiştir. Bunların 109 (% 10,4) tanesi *Campylobacter*, 17 (% 1,6) tanesi *Salmonella* ve 20 (% 1,9) tanesi *Shigella*/EIEC olarak bulunmuştur. Kültürde ise toplamda 96 (% 8,9) dışkı örneği pozitif bulunmuş olup, bunların 75'i (% 7,1) *C. jejuni/C. coli*, 14'ü (% 1,3) *Salmonella* ve 7'si (% 0,7) *Shigella* olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, kültür pozitif bütün hastaları BD MAX EBP de pozitif saptamıştır (137). Knabl ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada 893 dışkı örneğinde *Campylobacter* için 29 (% 3), *Salmonella* için 8 (% 0,9) ve *Shigella* için 2 (% 0,22) kültür pozitifliği saptanmıştır. BD MAX EBP için ise *Campylobacter* için 41 (% 4,6), *Salmonella* için 14 (% 1,6) ve *Shigella* için 5 (% 0,5) dışkı örneğinde pozitiflik bulunmuştur (130).

Bizim çalışmamızda korumasız dışkı kabında gelen 220 örnekte; kültürdeki *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,008; p<0,05). Kültür sonucunda pozitiflik görülme oranı % 0,5 (bir vaka) iken, BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 4,1 (dokuz vaka)'dir. *Campylobacter* için kültürde ve BD MAX EBP'de tespit edilen pozitiflik oranları literatürle uyumlu bulunmuştur. *Salmonella* için ise kültürde pozitiflik görülmezken; BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 1,4 (üç vaka)'tür. *Salmonella* için kültür pozitifliği bulunamadığı için literatürle uyumu değerlendirilememiştir. BD MAX EBP'de elde edilen pozitiflik görülme oranı ise literatürle uyumlu bulunmuştur. Kültürdeki *Shigella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,001; p<0,05). Kültür sonucunda pozitiflik görülme oranı % 0,5 (bir vaka) iken, BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 8,6 (19 vaka)'dır. *Shigella* için kültürde tespit edilen pozitiflik oranı literatürle uyumlu bulunmuş olup, BD MAX EBP'deki pozitiflik oranı literatürle uyumlu bulunmamıştır. Bu durumun BD MAX EBP'nin *Shigella* ile EIEC'yi ayırt edememesi ve dışkı örneklerindeki bakteri yoğunluklarının farklı olabilmesi gibi sebeplerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki taşıma besiyeri ile laboratuvara gelen 72 hasta örneğinde ise; kültürdeki *Campylobacter* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p:0,008; p<0,05). Kültür sonucunda pozitiflik görülme oranı % 6,9 (beş vaka) iken, BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 18,1 (13 vaka)'dir. *Campylobacter* için kültürdeki pozitiflik oranı literatürle uyumlu bulunmuştur. Taşıma besiyeri ile gelen örneklerin kültür pozitiflik oranlarının korumasız dışkı kabında gelen örneklerden daha yüksek olmasının, taşıma besiyerlerinde bakterilerin daha uzun süre canlı kalabilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BD MAX EBP'de tespit edilen pozitiflik oranlarının literatürdeki değerlerden yüksek olmasının ise o dönemdeki hasta popülasyonunun özellikleriyle ve dışkı örneklerindeki bakteri yoğunluklarının farklılığı gibi durumlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kültür sonucu *Salmonella* pozitifliği ile BD MAX EBP sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p:1,000; p>0,05). Hem Kültür sonucunda hem de BD MAX EBP sonucunda pozitiflik görülme oranı % 2,8 (iki vaka)'dir. Literatür çalışmaları incelendiğinde de kültür ve BD MAX EBP pozitiflik oranlarının birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte hem kültürün, hem de BD MAX EBP'nin *Salmonella* için verdikleri pozitiflik oranlarının, literatürdeki verilerle uyumlu olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda *Salmonella* için hem kültür, hem de BD MAX EBP'nin pozitiflik oranı literatürdeki çalışmalardan yüksek bulunmuştur. Bu durumun çalışmamızdaki hasta popülasyonunun özellikleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Hem kültür hem de BD MAX EBP sonucunda *Shigella* pozitifliği görülmemiştir.

Rohner ve arkadaşları, antibiyotik kullanımıyla, kültürde enterik bakteriyel patojenlerin pozitifliğini incelemek amacıyla, antibiyotik kullanan 5.655 gastroenterit vakasıyla, kullanmayan 7.454 gastroenterit vakasını incelediklerinde; antibiyotik kullanan grupta kültürde üreme olan hasta sayısı 156 (% 2,7), kullanmayan grupta ise 700 (% 8,6) olarak bulunmuştur (p<0,001) (201). Bizim çalışmamızda ise, antibiyotik kullanımının kültürde enterik bakteriyel patojen pozitiflik oranları üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir. Literatürde bu amaçla yapılan derlemelerde, Rohner ve arkadaşlarının çalışmalarında elde ettikleri veriler dışında başka kaynak göstermedikleri tespit edilmiş olup, literatür incelememizde bu konuyla ilgili bu çalışma dışında veri elde edebileceğimiz başka bir kaynak bulunamamıştır.

Moleküler yöntemlerin tanısal duyarlılığının, kültür yöntemlerinden daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalara ek olarak, dışkı örneklerinin bakteri yoğunluğu azaltılarak yapılan dilüsyon çalışmaları sonucunda da moleküler yöntemlerin bakterileri, kültür yöntemlerinden daha duyarlı bir şekilde tespit edebildikleri gösterilmiştir. Örneğin, Anderson ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* bakterilerinin her biri için ayrı ayrı, dışkıdaki konsantrasyonları 10^7 CFU/mL'den başlayacak şekilde seri dilüsyonlar hazırlamışlardır. Bu dilüsyon serilerinin her birinden dışkı örnekleri hem BD MAX EBP'de, hem de kültürde çalışılmıştır. Çalışma sonucunda BD MAX EBP'nin *Campylobacter* için 10^3 CFU/mL dilüsyonuna kadar % 100 oranında bakteri tespiti yapabildiği, 10^2 CFU/mL'de ise bu oranın % 68,8'e düştüğü görülmüştür. Kültürde ise 10^5 CFU/mL dilüsyona kadar bakteri tespit oranının % 100

olduğu, 10^4 CFU/mL dilüsyonda ise bu oranın % 63,8'e ve 10^2 CFU/mL'de ise % 18,8'e kadar düştüğü görülmüştür (138). Bizim çalışmamızda ise *Campylobacter* için hem kültür, hem de BD MAX EBP karşılaştırıldığında, BD MAX EBP 10^6-10^3 CFU/mL konsantrasyonlarında bakteri tespit edebilmişken, kültürde ise sadece 10^6 CFU/mL ve 10^5 CFU/mL konsantrasyonlarında bakteri tespit edilebilmiştir. Anderson ve ark.'ları *Salmonella* için ise bu oranları BD MAX EBP'de 10^5 CFU/mL'ye kadar % 100, 10^4 CFU/mL'de ise % 68,8 olarak; kültürde ise 10^6 CFU/mL'ye kadar % 100, 10^5 CFU/mL'de ise % 81,3 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise *Salmonella* için hem BD MAX EBP'de, hem de kültürde 10^4 CFU/mL'ye kadar bakteri tespit edilebilmiştir. *Shigella* için ise yine Anderson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BD MAX EBP'de 10^4 CFU/mL'ye kadar % 100, 10^3 CFU/mL'de ise % 81 olarak; kültürde ise 10^6 CFU/mL'ye kadar % 100, 10^5 CFU/mL'de ise % 75 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise *Shigella* için BD MAX EBP 10^6-10^3 CFU/mL konsantrasyonlarında bakteri tespit edebilmişken, kültürde ise sadece 10^6 CFU/mL ve 10^5 CFU/mL konsantrasyonlarında bakteri tespit edilebilmiştir.

Gastroenterit tanısı amacıyla yapılan kültür çalışmalarının 66,5 saat gibi uzun sürelerde, moleküler yöntemlerin ise 3 saatin altında sonuç verebilmeleri, bu yöntemleri kültüre göre avantajlı kılan faktörler arasında yer almaktadır (202). Bakteriyel gastroenterit etkenlerinin tespiti amacıyla kullanılan çeşitli ticari moleküler panellerin toplam sonuç verme süreleri; FilmArray Gastrointestinal Panel (bioMérieux) için 1 saat, Verigene Enteric Panel (EP) (Luminex, formerly Nanosphere) için 2 saat, Prodesse ProGastro (Hologic) için 4 saat, Gastrointestinal Pathogens Panel (GPP) (Luminex) için 5 saat ve bizim çalışmamızda kullandığımız panel olan BD MAX EBP'de ise 3 saattir (84).

Dışkı kültüründe, her pozitif sonuç başına düşen toplam maliyetin belirlenebilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. ABD'de Massachusetts General Hospital'de 1979 yılında 2468 dışkı kültürünün maliyet analizinin yapıldığı bir çalışmada, test birim fiyatı yaklaşık 22 Amerikan doları ($) olarak tespit edilmiş, tüm vakaların yalnızca % 2,4'ü *Salmonella, Shigella, C. jejuni* ve *Yersinia*'dan herhangi biri yönünden pozitif bulunmuş, kültür pozitiflik oranları düşüklüğü nedeniyle, hastaneye her pozitif sonuç başına maliyeti 952 $ olarak hesap edilmiştir. Yine ABD'de, Virginia Üniversitesi Hastanesi'nde, 1979-1981 yılları arasında 2020 dışkı örneği ile yapılan bir çalışmada, test birim fiyatı yaklaşık 18 $ olarak tespit edilmiş, tüm vakaların yalnızca % 1,5'i *Salmonella, Shigella, C. jejuni* ve

Yersinia'dan herhangi biri yönünden pozitif bulunmuş ve her pozitif sonuç başına maliyeti ise 1200 $ olarak hesap edilmiştir. Test birim fiyatlarının yaklaşık 22 $ ve 23 $ olduğu diğer bazı çalışmalar da bulunmaktadır (203). Bakteriyel gastroenterit tanısında kullanılan moleküler panellerin birim test fiyatlarının karşılaştırıldığı 2014 yılında yapılan bir çalışmada ise, "RIDA®GENE Bacterial Stool and EHEC/EPEC Panel"in bir dışkı örneği çalışması için maliyetinin 22,42 Pound (£), "FTD® Bacterial Gastroenteritis Panel" için 23,48 £ ve bizim çalışmamızda kullandığımız panel olan BD MAX EBP için de 22,50 £ olduğu tespit edilmiştir (202). 2015 yılında yapılan bir çalışmada ise kültür birim test maliyetinin 33,96 £, moleküler bakteriyel gastroenterit panellerinden olan Gastrointestinal Pathogens Panel (GPP) (Luminex)'in ise birim test maliyetinin 56,243 £ olduğu tespit edilmiştir (204). Çalışmamızda kullandığımız panel olan BD MAX EBP ile kültür yönteminin birim test maliyetlerinin analiz edildiği 2015 yılına ait, laborantların her test için harcadıkları süre üzerinden maaşlarına oranla hesaplanan ücretin, barkod vb. etiketlerin, kullanılan pipet uçları dahil kullanılan bütün malzeme fiyatlarının da hesaba katıldığı bir çalışmada ise, BD MAX EBP için bir dışkı örneğinin çalışma maliyeti 32,19 - 37,44 $ civarında bulunmuş, kültürün ise 26,06 - 64,30 $ civarında olduğu tespit edilmiştir (182).

Sonuç olarak;

- Kültür ve BD MAX EBP karşılaştırıldığında, dışkı kültürünün sonuç verme sürelerinin günler aldığı, tanısal duyarlılığının oldukça düşük olduğu ve iş yükünü önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. BD MAX EBP'nin ise birkaç saat içerisinde sonuç verdiği, yüksek tanısal duyarlılığa sahip olduğu ve iş yükünü azalttığı belirlenmiştir.
- Korumalı kaplarda gelen dışkı örneklerinde kültürdeki bakteri tespit oranlarının korumasız kaplarda gelen dışkı örneklerinden daha yüksek olduğunun bulunması, dışkı örneklerinin korumalı kaplarda taşınmasının önemini göstermektedir.
- Azalan konsantrasyonlarda bakteri yoğunluğuna sahip dışkı örneklerinde, kültürün tespit oranlarının BD MAX EBP'den düşük olması nedeniyle, dışkı örneklerindeki pozitifliklerin tespitinde BD MAX EBP'nin daha avantajlı olabileceği düşünülmektedir.

- Dışkı kültüründe pozitif sonuç elde etmek için gerekli maliyet ile BD MAX EBP'nin test başı maliyetleri arasında önemli ölçüde fark bulunmaması, bu tarz moleküler yöntemlerin mikrobiyoloji laboratuvarlarında maliyet-etkin bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

1. WHO. Diarrhoeal disease fact sheet. Genova: World Health Organization; 2017.
2. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE, Group WCHER. WHO estimates of the causes of death in children. The Lancet. 2005;365(9465):1147-52.
3. Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. Bulletin of the World Health Organization. 2008;86(9):710-7.
4. Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bulletin of the World Health Organization. 2003;81(3):197-204.
5. Steiner T, Guerrant R. Principles and syndromes of enteric infections. In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010. 1335-50 p.
6. Beers MH, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwits M. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. New Jersey: Merck Research Laboratories, Division of Merck AND Co., Inc. 2006. 133-9 p.
7. Humphries RM, Linscott AJ. Laboratory diagnosis of bacterial gastroenteritis. Clinical microbiology reviews. 2015;28(1):3-31.
8. Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG clinical guideline: diagnosis, treatment, and prevention of acute diarrheal infections in adults. The American journal of gastroenterology. 2016.
9. Aranda-Michel J, Giannella RA. Acute diarrhea: a practical review. The American journal of medicine. 1999;106(6):670-6.
10. Marcos LA, DuPont HL. Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. Journal of Infection. 2007;55(5):385-93.
11. Graves NS. Acute gastroenteritis. Primary Care: Clinics in Office Practice. 2013;40(3):727-41.
12. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology. Philadelphia: Saunders, ELSEVIER. 2007.
13. Anderson M, Sansonetti PJ, Marteyn BS. Shigella diversity and changing landscape: insights for the twenty-first century. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2016;6.

14. WHO. The Global Burden of Diseases: 2004 Update. Geneva, World Health Organization. 2008.
15. WHO. The top 10 causes of death fact sheet. Genova: World Health Organization. 2017.
16. WGO. Acute Diarrhea in Adults and Children: A Global Perspective. World Gastroenterology Organisation. 2012.
17. WHO. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks. Genova: World Health Organization. 2000.
18. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, DuPont HL. Noroviruses: The leading cause of gastroenteritis worldwide. Discovery medicine. 2010;10(50):61-70.
19. Bates SJ, Trostle J, Cevallos WT, Hubbard A, Eisenberg JN. Relating diarrheal disease to social networks and the geographic configuration of communities in rural Ecuador. American Journal of Epidemiology. 2007;166(9):1088-95.
20. Guyton A, Hall J. Textbook of medical physiology, 11th. Elsevier Inc.; 2006.
21. Andreoli T, Carpenter C, Griggs R, Losscalzo J. Cecil Essentials of Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders. 2001.
22. Turhan Ö, Yalçın NA. Akut İshalli Hastaya Yaklaşım. İç Hastalıkları Dergisi. 2004(4):182-93.
23. Warrell DA, Cox TM, Firth JD, Benz EJ. Oxford Textbook of Medicine: Oxford University Press; 2003.
24. Janda JM, Newton AE, Bopp CA. Vibriosis. Clinics in laboratory medicine. 2015;35(2):273-88.
25. Madhavan TP, Sakellaris H. Colonization factors of enterotoxigenic Escherichia coli. Advances in applied microbiology. 2015;90:155-97.
26. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3.basım: Nobel Tıp Kitabevi; 2008.
27. Wong Fok Lung T, Pearson JS, Schuelein R, Hartland EL. The cell death response to enteropathogenic Escherichia coli infection. Cellular microbiology. 2014;16(12):1736-45.
28. Einarsson E, Ma'ayeh S, Svard SG. An up-date on Giardia and giardiasis. Current opinion in microbiology. 2016;34:47-52.

29. Dekker JP, Frank KM. Salmonella, Shigella, and yersinia. Clin Lab Med. 2015;35(2):225-46.
30. Newton JM, M. Surawicz CM. Infectious Gastroenteritis and Colitis. Diarrhea. In: Guandalini S, Vaziri H, Clinical Gastroenterology. Springer Science-Business Media, LLC.2010.
31. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clinical microbiology and infection. 2003;9(4):247-62.
32. Parashar UD, Alexander JP, Glass RI, Practices ACoI. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) MMWR Recomm Rep. 2006;55:1-13.
33. Oude Munnink BB, Van der Hoek L. Viruses causing gastroenteritis: the known, the new and those beyond. Viruses. 2016;8(2):42.
34. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. Clin Microbiol Rev. 2015;28(1):134-64.
35. Eckardt AJ, Baumgart DC. Viral gastroenteritis in adults. Recent patents on anti-infective drug discovery. 2011;6(1):54-63.
36. Esona MD, Gautam R. Rotavirus. Clin Lab Med. 2015;35(2):363-91.
37. Lever A, Desselberger U. Rotavirus replication and the role of cellular lipid droplets: New therapeutic targets? Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi. 2016;115(6):389-94.
38. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. Emerg Infect Dis. 2008;14:1224-31.
39. Shibata S, Sekizuka T, Kodaira A, Kuroda M, Haga K, Doan YH, et al. Complete genome sequence of a novel GV.2 sapovirus strain, NGY-1, detected from a suspected foodborne gastroenteritis outbreak. Genome Announc. 2015;3.
40. Kobayashi S, Fujiwara N, Yasui Y, Yamashita T, Hiramatsu R, Minagawa H. A foodborne outbreak of sapovirus linked to catered box lunches in japan. Arch Virol. 2012;157:1995-7.
41. Marshall JA, Bruggink LD, Sturge K, Subasinghe N, Tan A, Hogg GG. Molecular features of astrovirus associated with a gastroenteritis outbreak in an aged-care

centre. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2007;26(1):67-71.

42. Glass RI, Noel J, Mitchell D, Herrmann JE, Blacklow NR, Pickering LK, et al. The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review. Archives of virology Supplementum. 1996;12:287-300.

43. Verma H, Chitambar SD, Gopalkrishna V. Astrovirus associated acute gastroenteritis in western India: predominance of dual serotype strains. Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. 2010;10(4):575-9.

44. Yang S, Zhang W, Shen Q, Yang Z, Zhu J, Cui L, et al. Aichi virus strains in children with gastroenteritis, China. Emerging infectious diseases. 2009;15(10):1703-5.

45. Drexler JF, Baumgarte S, de Souza Luna LK, Eschbach-Bludau M, Lukashev AN, Drosten C. Aichi virus shedding in high concentrations in patients with acute diarrhea. Emerging infectious diseases. 2011;17(8):1544-8.

46. Beards GM, Hall C, Green J, Flewett TH, Lamouliatte F, Du Pasquier P. An enveloped virus in stools of children and adults with gastroenteritis that resembles the Breda virus of calves. Lancet (London, England). 1984;1(8385):1050-2.

47. Jamieson FB, Wang EE, Bain C, Good J, Duckmanton L, Petric M. Human torovirus: a new nosocomial gastrointestinal pathogen. The Journal of infectious diseases. 1998;178(5):1263-9.

48. Ludert JE, Liprandi F. Identification of viruses with bi- and trisegmented double-stranded RNA genome in faeces of children with gastroenteritis. Research in virology. 1993;144(3):219-24.

49. Malik YS, Kumar N, Sharma K, Dhama K, Shabbir MZ, Ganesh B, et al. Epidemiology, phylogeny, and evolution of emerging enteric Picobirnaviruses of animal origin and their relationship to human strains. BioMed research international. 2014;2014:780752.

50. Banyai K, Jakab F, Reuter G, Bene J, Uj M, Melegh B, et al. Sequence heterogeneity among human picobirnaviruses detected in a gastroenteritis outbreak. Archives of virology. 2003;148(12):2281-91.

51. Navaneethan U, Giannella RA. Mechanisms of infectious diarrhea. Nature clinical practice Gastroenterology & hepatology. 2008;5(11):637-47.
52. Giannella RA. Infectious enteritis and proctocolitis and bacterial food poisoning. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease 9th ed Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier. 2010.
53. Gadewar S, Fasano A. Current concepts in the evaluation, diagnosis and management of acute infectious diarrhea. Current opinion in pharmacology. 2005;5(6):559-65.
54. Ghenghesh KS, Ghanghish K, BenDarif ET, Shembesh K, Franka E. Prevalence of Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, and Cryptosporidium spp. in Libya: 2000-2015. The Libyan journal of medicine. 2016;11:32088.
55. Le Bailly M, Maicher C, Dufour B. Archaeological occurrences and historical review of the human amoeba, Entamoeba histolytica, over the past 6000years. Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. 2016;42:34-40.
56. Baxt LA, Singh U. New insights into Entamoeba histolytica pathogenesis. Current opinion in infectious diseases. 2008;21(5):489-94.
57. Ravdin JI, Guerrant RL. Role of adherence in cytopathogenic mechanisms of Entamoeba histolytica. Study with mammalian tissue culture cells and human erythrocytes. The Journal of clinical investigation. 1981;68(5):1305-13.
58. Moncada D, Keller K, Chadee K. Entamoeba histolytica cysteine proteinases disrupt the polymeric structure of colonic mucin and alter its protective function. Infection and immunity. 2003;71(2):838-44.
59. Ankarklev J, Jerlstrom-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svard SG. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of Giardia species. Nature reviews Microbiology. 2010;8(6):413-22.
60. Ryan U, Hijjawi N. New developments in Cryptosporidium research. International journal for parasitology. 2015;45(6):367-73.
61. Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. Experimental parasitology. 2010;124(1):80-9.

62. Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks–an update 2004–2010. Water research. 2011;45(20):6603-14.
63. Church D. Aerobik Bakteriyoloji. Garcia LS, Isenberg HD. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El kitabı. 3. Baskı. 2007 Güncellemesi. Bölüm: 3.
64. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 – 27893.
65. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi. Akut Gastroenterit. T.C. Sağlık Bakanlığı. 2014.
66. Bilgehan H. Sindirim Sistemi Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik İncelenmesi. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 5. Baskı, Barış Yayınları, İzmir. 2009. 354-69 p.
67. Baron EJ, Thomson JR RB. Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology. Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition: American Society of Microbiology; 2011. 258-9.
68. T.C. Sağlık Bakanlığı. Oksidaz Testi. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt II. 2014.
69. Bilgehan H. Besiyerleri, ayıraçlar ve deneyler: Oksidaz deneyleri. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 5. Baskı, Barış Yayınları, İzmir. 2009:688.
70. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Seventh Edition: Wolters Kluwer; 2017.
71. T.C. Sağlık Bakanlığı. Üreaz Testi. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt II. 2014.
72. Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA. Escherichia, Shigella, and Salmonella. Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition: American Society of Microbiology; 2011. 603-26.
73. Dunbar SA, Zhang H, Tang Y-W. Advanced techniques for detection and identification of microbial agents of gastroenteritis. Clinics in laboratory medicine. 2013;33(3):527-52.
74. Bloomfield MG, Balm MN, Blackmore TK. Molecular testing for viral and bacterial enteric pathogens: gold standard for viruses, but don’t let culture go just yet? Pathology. 2015;47(3):227-33.

75. Platts-Mills JA, Liu J, Houpt ER. New concepts in diagnostics for infectious diarrhea. Mucosal immunology. 2013;6(5):876-85.
76. Platts-Mills JA, Operario DJ, Houpt ER. Molecular diagnosis of diarrhea: current status and future potential. Current infectious disease reports. 2012;14(1):41-6.
77. Reddington K, Tuite N, Minogue E, Barry T. A current overview of commercially available nucleic acid diagnostics approaches to detect and identify human gastroenteritis pathogens. Biomolecular Detection and Quantification. 2014;1(1):3-7.
78. Nolte FS, Caliendo AM. Molecular Microbiology. Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition: American Society of Microbiology; 2011. 27-59.
79. Wolk D, Mitchell S, Patel R. Principles of molecular microbiology testing methods. Infectious Disease Clinics of North America. 2001;15(4):1157-204.
80. Bélanger SD, Boissinot M, Clairoux N, Picard FJ, Bergeron MG. Rapid detection of Clostridium difficile in feces by real-time PCR. Journal of clinical microbiology. 2003;41(2):730-4.
81. Kirby A, Iturriza-Gómara M. Norovirus diagnostics: options, applications and interpretations. Expert review of anti-infective therapy. 2012;10(4):423-33.
82. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species. Clinical Microbiology Reviews. 2007;20(3):511-32.
83. Zhang H, Morrison S, Tang Y-W. Multiplex polymerase chain reaction tests for detection of pathogens associated with gastroenteritis. Clinics in laboratory medicine. 2015;35(2):461-86.
84. Smieja M, Goldfarb DM. Molecular detection of diarrheal pathogens. Clinical Microbiology Newsletter. 2016;38(17):137-45.
85. Becton, Dickinson, Inc. 2015. BD Max enteric bacterial panel. GenOhm Sciences, Canada, Inc, Quebec, QC, Canada.
86. Harrington S, Buchan B, Doern C, Fader R, Ferraro M, Pillai D, et al. Multicenter evaluation of the BD max enteric bacterial panel PCR assay for rapid detection of Salmonella spp., Shigella spp., Campylobacter spp.(C. jejuni and C. coli), and Shiga toxin 1 and 2 genes. Journal of clinical microbiology. 2015;53(5):1639-47.

87. Anhalt JP, Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry. Analytical Chemistry. 1975;47(2):219-25.
88. Platt J, Uy O, Heller D, Cotter RJ, Fenselau C. Computer-based linear regression analysis of desorption mass spectra of microorganisms. Analytical chemistry. 1988;60(14):1415-9.
89. Heller D, Cotter RJ, Fenselau C, Uy O. Profiling of bacteria by fast atom bombardment mass spectrometry. Analytical chemistry. 1987;59(23):2806-9.
90. Vlek AL, Bonten MJ, Boel CE. Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. PloS one. 2012;7(3):e32589.
91. Shah H, Collins M. Fatty acid and isoprenoid quinone composition in the classification of Bacteroides melaninogenicus and related taxa. Journal of Applied Bacteriology. 1980;48(1):75-87.
92. Heller D, Murphy C, Cotter RJ, Fenselau C, Uy O. Constant neutral loss scanning for the characterization of bacterial phospholipids desorbed by fast atom bombardment. Analytical chemistry. 1988;60(24):2787-91.
93. Tanaka K, Waki H, Ido Y, Akita S, Yoshida Y, Yoshida T, et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. Rapid communications in mass spectrometry. 1988;2(8):151-3.
94. Fenn JB, Mann M, Meng CK, Wong SF, Whitehouse CM. Electrospray ionization–principles and practice. Mass Spectrometry Reviews. 1990;9(1):37-70.
95. Holland R, Wilkes J, Rafii F, Sutherland J, Persons C, Voorhees K, et al. Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 1996;10(10):1227-32.
96. Giebel R, Worden C, Rust S, Kleinheinz G, Robbins M, Sandrin T. Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): applications and challenges. Advances in applied microbiology. 2010;71:149-84.
97. Emonet S, Shah H, Cherkaoui A, Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. Clinical Microbiology and Infection. 2010;16(11):1604-13.

98. De Carolis E, Vella A, Vaccaro L, Torelli R, Spanu T, Fiori B, et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. Journal of infection in developing countries. 2014;8(9):1081-8.
99. Dupont C, Sivadon-Tardy V, Bille E, Dauphin B, Beretti J, Alvarez A, et al. Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems. Clinical Microbiology and Infection. 2010;16(7):998-1004.
100. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). Applied microbiology and biotechnology. 2012;93(3):965-74.
101. Wolk DM, Kaleta EJ, Wysocki VH. PCR-electrospray ionization mass spectrometry: the potential to change infectious disease diagnostics in clinical and public health laboratories. The Journal of molecular diagnostics : JMD. 2012;14(4):295-304.
102. Sidoti F, Rittà M, Costa C, Cavallo R. Diagnosis of viral gastroenteritis: limits and potential of currently available procedures. The Journal of Infection in Developing Countries. 2015;9(06):551-61.
103. Lübbert C. Antimicrobial therapy of acute diarrhoea: a clinical review. Expert review of anti-infective therapy. 2016;14(2):193-206.
104. WHO. Oral rehydration salts: production of the new ORS. Genova: World Health Organization; 2006.
105. Hong KS, Kim JS. Rifaximin for the treatment of acute infectious diarrhea. Therapeutic advances in gastroenterology. 2011;4(4):227-35.
106. Debruyne L, Gevers D, Vandamme P. Taxonomy of the family Campylobacteraceae. In: Nachamkin I, Szymanski M, Blaser MJ, (eds). Campylobacter, 3 rd ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2008. 3-26.
107. Samie A, Obi C, Barrett L, Powell S, Guerrant R. Prevalence of Campylobacter species, Helicobacter pylori and Arcobacter species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods. Journal of Infection. 2007;54(6):558-66.

108. Eppinger M, Baar C, Raddatz G, Huson DH, Schuster SC. Comparative analysis of four Campylobacterales. Nature Reviews Microbiology. 2004;2(11):872-85.
109. Fitzgerald C. Campylobacter. Clin Lab Med. 2015;35(2):289-98.
110. Fitzgerald C, Nachamkinn I. Campylobacter and Arcobacter. Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition: American Society of Microbiology; 2011. 885-95.
111. Allos BN, Blaser MJ. Campylobacter jejuni and Related Species. In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010. 2793-9.
112. Ivanovic S. Campylobacter as a cause of gastroenteritis in humans and animals. African Journal of Microbiology Research. 2012;6(8):1651-7.
113. Geleijns K, Jacobs BC, Van Rijs W, Tio-Gillen AP, Laman JD, van Doorn PA. Functional polymorphisms in LPS receptors CD14 and TLR4 are not associated with disease susceptibility or Campylobacter jejuni infection in Guillain-Barre patients. Journal of neuroimmunology. 2004;150(1-2):132-8.
114. Lee S, Lee J, Ha J, Choi Y, Kim S, Lee H, et al. Clinical relevance of infections with zoonotic and human oral species of Campylobacter. Journal of microbiology (Seoul, Korea). 2016;54(7):459-67.
115. Szymanski CM, King M, Haardt M, Armstrong GD. Campylobacter jejuni motility and invasion of Caco-2 cells. Infection and immunity. 1995;63(11):4295-300.
116. Jagannathan A, Penn C, Ketley J, Konkel M. Motility. Campylobacter: Molecular and cellular biology. 2005:331-47.
117. Wassenaar TM, van der Zeijst BA, Ayling R, Newell DG. Colonization of chicks by motility mutants of Campylobacter jejuni demonstrates the importance of flagellin A expression. Microbiology. 1993;139(6):1171-5.
118. Guerry P. Campylobacter flagella: not just for motility. Trends in microbiology. 2007;15(10):456-61.
119. Dasti JI, Tareen AM, Lugert R, Zautner AE, Groß U. Campylobacter jejuni: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. International Journal of Medical Microbiology. 2010;300(4):205-11.
120. Krause-Gruszczynska M, Rohde M, Hartig R, Genth H, Schmidt G, Keo T, et al. Role of the small Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in host cell invasion of Campylobacter jejuni. Cellular microbiology. 2007;9(10):2431-44.

121. Kaakoush NO, Castano-Rodriguez N, Mitchell HM, Man SM. Global Epidemiology of Campylobacter Infection. Clin Microbiol Rev. 2015;28(3):687-720.
122. WHO. Campylobacter fact sheet. Genova: World Health Organization; 2016.
123. Golz G, Rosner B, Hofreuter D, Josenhans C, Kreienbrock L, Lowenstein A, et al. Relevance of Campylobacter to public health--the need for a One Health approach. International journal of medical microbiology : IJMM. 2014;304(7):817-23.
124. Strachan N, Watson R, Novik V, Hofreuter D, Ogden I, Galan J. Sexual dimorphism in campylobacteriosis. Epidemiology and infection. 2008;136(11):1492-5.
125. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleesschauwer B, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. PLoS Med. 2015;12(12):e1001921.
126. Havelaar AH, Ivarsson S, Lofdahl M, Nauta MJ. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. Epidemiol Infect. 2013;141(2):293-302.
127. EFSA ECDC. The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. EFSA J. 12, 3547. 2014.
128. Crim SM, Iwamoto M, Huang JY, Griffin PM, Gilliss D, Cronquist AB, et al. Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US sites, 2006–2013. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2014;63(15):328-32.
129. T.C. Sağlık Bakanlığı. Campylobacter jejuni/coli Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt I. 2014.
130. Knabl L, Grutsch I, Orth-Höller D. Comparison of the BD MAX® Enteric Bacterial Panel assay with conventional diagnostic procedures in diarrheal stool samples. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2016;35(1):131-6.

131. Huang H, Brooks BW, Lowman R, Carrillo CD. Campylobacter species in animal, food, and environmental sources, and relevant testing programs in Canada. Can J Microbiol. 2015;61:701-21.
132. Mace S, Haddad N, Zagorec M, Tresse O. Influence of measurement and control of microaerobic gaseous atmospheres in methods for Campylobacter growth studies. Food Microbiology. 2015;52:196-76.
133. Solomon EB, Hoover DG. Campylobacter Jejuni: A Bacterial Paradox. Journal of Food Safety. 1999;19:121-36.
134. Engberg J, On SLW, Harrington CS, Gerner-Smİdt P. Prevalence of Campylobacter, Arcobacter, Helicobacter, and Sutterella spp. in Human Fecal Samples as Estimated by a Reevaluation of Isolation Methods for Campylobacters. Journal Of Clinical Microbiology. 2000;38(1):286-91.
135. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji: Güneş Kitabevi; 1999.
136. Miller RS, Speegle L, Oyarzabal OA, Lastovica AJ. Evaluation of three commercial latex agglutination tests for identification of Campylobacter spp. Journal of clinical microbiology. 2008;46(10):3546-7.
137. Wohlwend N, Tiermann S, Risch L, Risch M, Bodmer T. Evaluation of a multiplex real-time PCR assay for detecting major bacterial enteric pathogens in fecal specimens: intestinal inflammation and bacterial load are correlated in Campylobacter infections. Journal of Clinical Microbiology. 2016;54(9):2262-6.
138. Anderson NW, Buchan BW, Ledeboer NA. Comparison of the BD MAX enteric bacterial panel to routine culture methods for detection of Campylobacter, enterohemorrhagic Escherichia coli (O157), Salmonella, and Shigella isolates in preserved stool specimens. Journal of clinical microbiology. 2014;52(4):1222-4.
139. Skerman VBD, McGowan V, Sneath PHA. Approved Lists of Bacterial Names. Washington (DC): ASM Press; 1980.
140. Bell C, Kyriakides A. Salmonella: a practical approach to the organism and its control in foods: John Wiley & Sons; 2008.
141. Brands DA. Salmonella: Chelsea House Publishers, Philadelphia; 2006.
142. Sırıken B. Salmonella patojenite adaları. Mikrobiyoloji Bülteni. 2013;47(1):181-8.
143. Moest TP, Méresse S. Salmonella T3SSs: successful mission of the secret (ion) agents. Current opinion in microbiology. 2013;16(1):38-44.

144. Römling U. Characterization of the rdar morphotype, a multicellular behaviour in Enterobacteriaceae. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 2005;62(11):1234-46.
145. Crawford RW, Gibson DL, Kay WW, Gunn JS. Identification of a bile-induced exopolysaccharide required for Salmonella biofilm formation on gallstone surfaces. Infection and immunity. 2008;76(11):5341-9.
146. Patzer S, Baquero M, Bravo D, Moreno F, Hantke K. The colicin G, H and X determinants encode microcins M and H47, which might utilize the catecholate siderophore receptors FepA, Cir, Fiu and IroN. Microbiology. 2003;149(9):2557-70.
147. Hantke K, Nicholson G, Rabsch W, Winkelmann G. Salmochelins, siderophores of Salmonella enterica and uropathogenic Escherichia coli strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(7):3677-82.
148. Guiney DG, Fierer J. The Role of the spv Genes in Salmonella Pathogenesis. Frontiers in microbiology. 2011;2:129.
149. Pegues DA, Miller SI. Salmonella Species, Including Salmonella Typhi. In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010. 2887-903.
150. Sanchez-Vargas FM, Abu-El-Haija MA, Gomez-Duarte OG. Salmonella infections: an update on epidemiology, management, and prevention. Travel medicine and infectious disease. 2011;9(6):263-77.
151. Linam WM, Gerber MA. Changing epidemiology and prevention of Salmonella infections. The Pediatric infectious disease journal. 2007;26(8):747-8.
152. Majowicz SE, Musto J, Scallan E, Angulo FJ, Kirk M, O'brien SJ, et al. The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis. Clinical Infectious Diseases. 2010;50(6):882-9.
153. T.C. Sağlık Bakanlığı. Salmonella Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt I. 2014.

154. Cilo BD, Karakeçili F, Güleşen R, Levent B, Özakın C, Gedikoğlu S. Salmonella Serotiplerinin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemler ile Belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2013;47(4):693-701.
155. Goering RV. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. Infection, Genetics and Evolution. 2010;10(7):866-75.
156. Bilgehan H. Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 5. Baskı, Barış Yayınları, İzmir. 2009:425-54.
157. Wiedmann M. Subtyping of bacterial foodborne pathogens. Nutrition reviews. 2002;60(7):201-8.
158. Bilman FB, Günaydın E, Turhanoğlu M, Akkoç A. Nefrolitiazisli Asemptomatik Bir Olgunun İdrar Kültüründen İzole Edilen Mukoid Salmonella sp. Suşunun Tür Düzeyinde Tanımlanmasında PCR Yönteminin Değeri. Mikrobiyol Bul. 2014;48(1):151-9.
159. Pang JC, Chiu TH, Chiou CS, Schroeter A, Guerra B, Helmuth R, et al. Pulsed-field gel electrophoresis, plasmid profiles and phage types for the human isolates of Salmonella enterica serovar Enteritidis obtained over 13 years in Taiwan. Journal of applied microbiology. 2005;99(6):1472-83.
160. Martiny D, Busson L, Wybo I, El Haj RA, Dediste A, Vandenberg O. Comparison of the MICROFLEX LT and VITEK® MS systems for the routine identification of bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. Journal of clinical microbiology. 2012:JCM. 05971-11.
161. Pierce SE, Bell RL, Hellberg RS, Cheng C-M, Chen K-S, Williams-Hill DM, et al. Detection and identification of Salmonella enterica, Escherichia coli, and Shigella spp. via PCR-electrospray ionization mass spectrometry: isolate testing and analysis of food samples. Applied and environmental microbiology. 2012;78(23):8403-11.
162. Taneja N, Mewara A. Shigellosis: Epidemiology in India. The Indian journal of medical research. 2016;143(5):565-76.
163. Lee JC, Jeong YS, Oh JY, Kang HY, Kim KH, Kim J, et al. Epidemiology of shigellosis in Korea. Journal of Bacteriology and Virology. 2006;36(2):41-9.

164. Trofa AF, Ueno-Olsen H, Oiwa R, Yoshikawa M. Dr. Kiyoshi Shiga: discoverer of the dysentery bacillus. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 1999;29(5):1303-6.
165. T.C. Sağlık Bakanlığı. Shigella Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt I. 2014.
166. DuPont HL. Shigella Species (Bacillary Dysentery). In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010:2905-10.
167. Sperandio B, Regnault B, Guo J, Zhang Z, Stanley SL, Sansonetti PJ, et al. Virulent Shigella flexneri subverts the host innate immune response through manipulation of antimicrobial peptide gene expression. Journal of Experimental Medicine. 2008;205(5):1121-32.
168. Sethuvel M, Prabaa D, Ragupathi D, Kumar N, Anandan S, Veeraraghavan B. Update on: Shigella new serogroups/serotypes and their antimicrobial resistance. Letters in applied microbiology. 2016.
169. Barrantes K, Achí R. The importance of integrons for development and propagation of resistance in Shigella: the case of Latin America. brazilian journal of microbiology. 2016;47(4):800-6.
170. van den Beld M, Reubsaet F. Differentiation between Shigella, enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) and noninvasive Escherichia coli. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2012;31(6):899-904.
171. Løbersli I, Wester A, Kristiansen Å, Brandal L. Molecular differentiation of Shigella spp. from enteroinvasive E. coli. European Journal of Microbiology and Immunology. 2016;6(3):197-205.
172. Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010. 2815-33.
173. Schriefer ME, Petersen JM. Yersinia. Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition2011. 627-38.

174. Petsios S, Fredriksson-Ahomaa M, Sakkas H, Papadopoulou C. Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of Yersinia enterocolitica in food. International Journal of Food Microbiology. 2016;237:55-72.
175. T.C. Sağlık Bakanlığı. Yersiniyozun (Yersinia sp enfeksiyonu) Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Cilt I. 2014.
176. Clemens JD, Nair GB, Ahmed T, Qadri F, Holmgren J. Cholera. Lancet (London, England). 2017.
177. Janda JM, Abbott SL, McIver CJ. Plesiomonas shigelloides revisited. Clinical microbiology reviews. 2016;29(2):349-74.
178. Chen X, Chen Y, Yang Q, Kong H, Yu F, Han D, et al. Plesiomonas shigelloides infection in Southeast China. PloS one. 2013;8(11):e77877.
179. Talagrand-Reboul E, Jumas-Bilak E, Lamy B. The social life of Aeromonas through biofilm and quorum sensing systems. Frontiers in microbiology. 2017;8.
180. Steinberg JP, Burd EM. Other Gram-Negative and Gram-Variable Bacilli. In: Mandell G, Dolin R, Bennet J. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. 2010. 3015-33.
181. Bruker Daltonik GmbH. Microflex™ User Manual, Version 1.2.
182. Mortensen JE, Ventrola C, Hanna S, Walter A. Comparison of time-motion analysis of conventional stool culture and the BD MAX Enteric Bacterial Panel (EBP). BMC clinical pathology. 2015;15:9.
183. Operario DJ, Houpt E. Defining the etiology of diarrhea: novel approaches. Current opinion in infectious diseases. 2011;24(5):464.
184. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clinical infectious diseases. 2001;32(3):331-51.
185. Guarino A, Giannattasio A. New molecular approaches in the diagnosis of acute diarrhea: advantages for clinicians and researchers. Current opinion in gastroenterology. 2011;27(1):24-9.
186. Blaser MJ, Wells JG, Feldman RA, Pollard RA, Allen JR. Campylobacter Enteritis in the United States A Multicenter Study. Annals of internal medicine. 1983;98(3):360-5.

187. Baffone W, Ciaschini G, Pianetti A, Brandi G, Casaroli A, Bruscolini F. Detection of Escherichia coli O157:H7 and other intestinal pathogens in patients with diarrhoeal disease. European journal of epidemiology. 2001;17(1):97-9.
188. Maraki S, Georgiladakis A, Tselentis Y, Samonis G. A 5-year study of the bacterial pathogens associated with acute diarrhoea on the island of Crete, Greece, and their resistance to antibiotics. European journal of epidemiology. 2003;18(1):85-90.
189. Bakıcı Z, Çakmaktepe S, Güney A. Bölgemizden Soyutlanan Salmonella ve Shigella Bakterileri ve Antibiyotik Duyarlılıkları. C Ü Tıp Fakültesi Dergisi. 2001;23(3):141-4.
190. Kanan B, Akşit F. Akut gastroenteritli olgularda Campylobacter sıklığının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi. 2003;17(1):11-4.
191. Ateş-Yılmaz A, Tuğrul HM. Edirne'de ishal etkenleri arasında Campylobacter türlerinin yerinin ve antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi. 2005;19(1):53-9.
192. Öngen B. Türkiye'de ishal etkenleri. Ankem Derg. 2006;20(Ek2):122-34.
193. Yazıcı V, Gültekin B, Aydın N, Aral YZ, Aydoğdu A, Karaoğlu AÖ. Akut gastroenteritli olguların dışkı örneklerinde bazı bakteri ve virüslerin araştırılması. Ankem Derg. 2009;23(2):59-65.
194. Feierl G, Pschaid A, Sixl B, Marth E. Increase of ciprofloxacin resistance in Campylobacter species in Styria, Austria. Zentralblatt fur Bakteriologie : international journal of medical microbiology. 1994;281(4):471-4.
195. Susceptibilities TA. Campylobacter türlerinin fenotipik yöntemler ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu ile tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2013;47(2):230-9.
196. Öngen B, Nazik H, Kaya I. Rutin dışkı kültürlerinde üretilen Campylobacter türleri ve antibiyotik duyarlılıkları: 5 yıllık sonuçların değerlendirilmesi. Ankem Derg. 2007;21(1):37-41.
197. Taş E, Ardıç N. Akut gastroenteritli olgularda termofilik Campylobacter, Escherichia coli O157: H7 ve rotavirus sıklığı. Klimik Dergisi. 2004;17(3):186-90.
198. Wang W, Reller LB, Smallwood B, Luechtefeld N, Blaser M. Evaluation of transport media for Campylobacter jejuni in human fecal specimens. Journal of clinical microbiology. 1983;18(4):803-7.

199. Chan S, Ng K, Lyon D, Cheung W, Cheng A, Rainer T. Acute bacterial gastroenteritis: a study of adult patients with positive stool cultures treated in the emergency department. Emergency Medicine Journal. 2003;20(4):335-8.
200. Brown J, Patterson J, Loechel S, Olma T, Watts M, Chen SC. Evaluation of the BD max multiplex enteric pathogen PCR system versus routine culture–rapid and accurate diagnosis of common bacterial diarrhoeal disease. Pathology. 2016;48:S61-S2.
201. Rohner P, Pittet D, Pepey B, Nije-Kinge T, Auckenthaler R. Etiological agents of infectious diarrhea: implications for requests for microbial culture. Journal of clinical microbiology. 1997;35(6):1427-32.
202. Biswas J, Al-Ali A, Rajput P, Smith D, Goldenberg S. A parallel diagnostic accuracy study of three molecular panels for the detection of bacterial gastroenteritis. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2014;33(11):2075-81.
203. Guerrant RL, Wanke CA, Barrett LJ, Schwartzman JD. A cost effective and effective approach to the diagnosis and management of acute infectious diarrhea. Bulletin of the New York Academy of Medicine. 1987;63(6):484-99.
204. Goldenberg SD, Bacelar M, Brazier P, Bisnauthsing K, Edgeworth JD. A cost benefit analysis of the Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel for detection of infectious gastroenteritis in hospitalised patients. Journal of Infection. 2015;70(5):504-11.

7. ETİK KURUL KARARI

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Beyoğlu Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı:1224 **Tarih: 21/06/2016**
Konu: Düzeltme Yazısı

Doç.Dr.Elif AKTAŞ SEPETÇİ

"Bakteriyel gastorenterit etkenlerinin tespitinde BD max enterik bakteriyel panel ile rutin kültür yönteminin karşılaştırılması" isimli çalışmanızın evrakları incelendi ve etik sakınca bulunmadığına oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr.Yüksel Altuntaş
Etik Kurul Başkanı