

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FIRAT ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ MİKROBİYOLOJİ
LABORATUVARI'NA GÖNDERİLEN DİYARELİ DİŞKİ
ÖRNEKLERİNDE ENFEKSİYON ETKENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ferhat GENÇ

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN**

ELAZIĞ -2020

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin KAYA GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN _____ Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamda bana destek olan; ilerideki uzmanlık hayatım boyunca yol gösterici olacak olan çalışkanlığı, bilgi ve tecrübesiyle kendime örnek aldığım sayın tez hocam Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN'a; Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın hocalarım Prof. Dr. Adnan SEYREK'e ve Prof. Dr. Yasemin BULUT'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın tüm çalışanları ve arkadaşlarıma; uzmanlık eğitimim süresince hep yanımda olan ve bana en zorlu zamanlarda yardımcı olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Normal dışkılama günde üç ile üç günde bir arasında değişen 200-300 gram ağırlığında kıvamlı ve şekillidir.

İshalle seyreden hastalıklar az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölüme neden olarak 2. sırada yer alır. 5 yaş altı çocuklarda ise ana ölüm nedenidir. İshal çoğunlukla gastrointestinal sistemin özellikle incebağırsak ve kalınbağırsak bölümünün bakteri, virüs ve parazitler gibi etkenlerle karşılaşmasıyla gerçekleşir. Bunlar arasında *Salmonella spp.* , *Shigella spp.* , *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Clostridium difficile* (*C. difficile*), *Shiga like toksin üreten Escherichia coli* (*E. coli*), *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), *G. intestinalis*, *Rotavirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *Adenovirüs* ve *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) yer alır.

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı'nda dışkı örneklerinde bakteriyel, viral, paraziter diyare etkenlerinin belirlenmesi amacıyla tetkik istenen 100 hastanın dışkı örneği incelenerek yapılmıştır. Kabul edilen dışkı örneklerinde, *C. parvum*, *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *C. difficile*, *Rotavirus*, *Adenovirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *C. difficile* antijenleri immünokromatografik yöntem esasına dayanan kaset testi ile değerlendirilmiştir.

Bakteriyel diyare etkenleri Real Time PCR ile çalışılmıştır.

Bu çalışmamızda alınan 100 dışkı örneğinden 1 hastada *Salmonella spp.* , 1 hastada *Shigella spp.* , 12 hastada *C. jejuni* , 9 hastada *Shiga like toksin üreten E. coli*, 27 hastada *C. difficile*, 16 hastada *Rotavirus*, 8 hastada *Adenovirüs*, 5 hastada *Astrovirüs*, 6 hastada *Norovirüs*, 1 hastada *C. parvum*, 1 hastada *G. intestinalis* tespit edilmiştir. Çalışmamızda *E. histolytica* etken olarak tespit edilememiştir.

Anahtar kelimeler: Diyare, immünokromatografik yöntemler, RT-PCR.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF INFECTIOUS FACTORS IN STOOL SAMPLES SENT TO FIRAT UNIVERSITY HOSPITAL MICROBIOLOGY LABORATORY

Normal stool is consistency and shape, weighing 200-300 grams a day, ranging from three to three days.

Diseases with diarrhea take the second place as causing death after cardiovascular diseases in underdeveloped and developing countries. It is the main cause of death in children under 5 years old. Diarrhea usually occurs when the gastrointestinal system, especially the small intestine and large intestine section, encounters factors such as bacteria, viruses and parasites. These include *Salmonella* spp. *Shigella* spp. , *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Clostridium difficile* (*C. difficile*), *Shiga-like toxin-producing Escherichia coli* (*E. coli*), *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), *G. intestinalis*, *Rotavirus*, *Astrovirus*, *Norovirus*, *Adenovirus*, and *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*).

This study was carried out by examining the stool samples of 100 patients who were requested to be examined in order to determine the bacterial, viral and parasitic diarrhea factors in the stool samples in the Medical Microbiology Center Laboratory of Firat University Medical Faculty. *C. parvum*, *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *C. difficile*, *Rotavirus*, *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Norovirus*, *C. difficile* antigens were evaluated using the immunochromatographic method based cassette test in accepted stool samples.

Bacterial diarrhea agents were studied with Real Time PCR.

In 1 patient out of 100 stool samples taken in our study, *Salmonella* spp. , 1 patient *Shigella* spp. *C. jejuni* in 13 patients. *E. coli* producing *Shiga-like toxin* in 9 patients, *C. difficile* in 27 patients, *Rotavirus* in 16 patients, *Adenovirus* in 8 patients, *Astrovirus* in 5 patients, *Norovirus* in 6 patients, *C. parvum* in 1 patient, *G. intestinalis* in 1 patient were detected. In our study, *E. histolytica* was not detected as a factor.

Keywords: Diarrhea, immunochromatographic methods, RT-PCR.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	xiv
ŞEKİL LİSTESİ	xv
RESİM LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Diyare	2
1.2. Bakteriyel Diyare Etkenleri	6
1.2.1. Clostridium Difficile	6
1.2.1.1. Tarihçe	6
1.2.1.2. Morfoloji	6
1.2.1.3. Patogenez	7
1.2.1.4. Epidemiyoloji	9
1.2.1.5. Klinik	10
1.2.1.5.1. Basit Antibiyotikle İlişkili İshal	11
1.2.1.5.2. Clostridium Difficile'nin Asemptomatik Taşınması	11
1.2.1.5.3. Clostridium Difficile Psödomembran Oluşumu Olmayan Kolit	11
1.2.1.5.4. Psödomembranöz Kolit	12
1.2.1.5.5. Fulminan Kolit	12
1.2.1.5.6. Tekrarlayan Enfeksiyon	13

1.2.1.5.7. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olan Hastalarda C. Difficile Enfeksiyonu	14
1.2.1.6. Tanı	14
1.2.1.6.1. Endoskopik İnceleme	15
1.2.1.6.2. Radyolojik İnceleme	16
1.2.1.6.3. Laboratuvar Metodları	16
1.2.1.6.4. Mikroskopik İnceleme	16
1.2.1.6.5. Hücre Kültürü Sitotoksosite Nötralizasyon Deneyleri	16
1.2.1.6.6. Kültür	17
1.2.1.6.7. Enzim Temelli İmmünolojik Yöntemler (Enzim Immunoassay EIA)	18
1.2.1.6.8. Moleküler Tanı Yöntemleri	20
1.2.1.6.9. Kromatografik Yöntemler	20
1.2.1.6.10. Yardımcı Laboratuvar Testleri	21
1.2.1.6.11. Biyokimyasal Testler	21
1.2.1.7. Tedavi	22
1.2.1.7.1. Şiddetli veya Fulminan Kolit	23
1.2.1.7.2. Tekrarlayan C. Difficile İshali	23
1.2.2. Campylobacter Jejuni	24
1.2.2.1. Tarihçe	24
1.2.2.2. Morfoloji	25
1.2.2.3. Patogenez	25
1.2.2.4. Epidemiyoloji	27
1.2.2.5. Klinik	28
1.2.2.6. Tanı	31
1.2.2.6.1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması	31
1.2.2.6.2. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örnekleri	31
1.2.2.6.3. Kan Örnekleri	32
1.2.2.6.4. Mikroskopik İnceleme	32
1.2.2.6.5. Kültür	32

1.2.2.6.6. İdentifikasyon	32
1.2.2.6.7. Serolojik Testler	33
1.2.2.6.8. Moleküler Yöntemler	34
1.2.2.7. Tedavi	34
1.2.3. Salmonella	35
1.2.3.1. Tarihçe	35
1.2.3.2. Morfoloji	36
1.2.3.2.1. Salmonella'ların Sınıflandırılması ve İkili Adlandırılması	37
1.2.3.2.2. Biyokimyasal Yapısı	38
1.2.3.2.3. Antijenik Yapıları	38
1.2.3.3. Patogenez	39
1.2.3.4. Epidemiyoloji	40
1.2.3.5. Klinik	42
1.2.3.5.1. Enterik Ateş (Tifo)	42
1.2.3.5.2. Akut Gastroenterit	42
1.2.3.5.3. Bakteriyemi	43
1.2.3.5.4. Kronik Taşıyıcılık	43
1.2.3.6. Tanı	44
1.2.3.6.1. Kültür	44
1.2.3.6.2. Serolojik Testler	44
1.2.3.6.3. Moleküler Yöntemler	45
1.2.3.6.4. Mikroskopik İnceleme	45
1.2.3.7. Tedavi	46
1.2.4. Shigella	46
1.2.4.1. Tarihçe	46
1.2.4.2. Morfolojik Özellikleri ve Sınıflandırılması	47
1.2.4.3. Patogenez	50
1.2.4.4. Epidemiyoloji	53
1.2.4.5. Klinik	54

1.2.4.6. Tanı	57
1.2.4.6.1. Serolojik Tanı	58
1.2.4.6.2. Sereny Testi	58
1.2.4.6.3. Moleküler Teknikler	58
1.2.4.7. Tedavi	59
1.2.5. Enterohemorajik E. Coli	60
1.2.5.1. Tarihçe	60
1.2.5.2. Morfoloji	61
1.2.5.3. Patogenez	61
1.2.5.4. Epidemiyoloji	62
1.2.5.5. Klinik	63
1.2.5.6. Tanı	64
1.2.5.7. Tedavi	66
1.3. Paraziter Diyare Etkenleri	67
1.3.1. Cryptosporidium Parvum	67
1.3.1.1. Tarihçe	67
1.3.1.2. Sınıflandırma	68
1.3.1.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü	69
1.3.1.4. Patogenez	71
1.3.1.5. Epidemiyoloji	72
1.3.1.6. Klinik	74
1.3.1.7. Tanı	75
1.3.1.7.1. Direkt Tanı Yöntemleri	76
1.3.1.7.1.1. Mikroskopik Tanı	76
1.3.1.7.1.2. Moleküler Tanı	78
1.3.1.7.2. İndirekt Tanı Yöntemleri	80
1.3.1.7.2.1. Serumda Antikor Aranmasında Kullanılan Yöntemler	80

1.3.1.7.2.2. Dışkıda Kriptosporodiyal Antijen Aranmasında Kullanılan Yöntemler	80
1.3.1.7.3. Histopatolojik Tanı	81
1.3.1.8. Tedavi	82
1.3.1.9. Korunma	83
1.3.2. Giardia İntestinalis	83
1.3.2.1. Tarihçe	84
1.3.2.2. Sınıflandırma	84
1.3.2.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü	84
1.3.2.4. Patogenez	87
1.3.2.5. Epidemiyoloji	90
1.3.2.6. Klinik	92
1.3.2.6.1. Asemptomatik Enfeksiyon	92
1.3.2.6.2. Akut Giardiyazis	92
1.3.2.6.3. Kronik Giardiyazis	93
1.3.2.7. Tanı	95
1.3.2.8. Tedavi	96
1.3.3. Entamoeba Histolytica	97
1.3.3.1. Tarihçe	97
1.3.3.2. Sınıflandırılması	98
1.3.3.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü	99
1.3.3.4. Patogenez	103
1.3.3.5. Epidemiyoloji	104
1.3.3.6. Klinik	104
1.3.3.6.1. Asemptomatik Kolonizasyon	105
1.3.3.6.2. Amebik Kolit ve Dizanteri	105
1.3.3.6.3. Ekstraintestinal Amebiyazis	106
1.3.3.7. Tanı	107

1.3.3.7.1. Dışkı Mikroskopisi	107
1.3.3.7.2. Kültür ve İzoenzim Analizi	109
1.3.3.7.3. Antikor Saptama Yöntemleri	110
1.3.3.7.4. Antijen Saptama Yöntemleri	111
1.3.3.7.5. Moleküler Tanı Metotları	112
1.3.3.8. Tedavi	112
1.4. Viral Diyare Etkenleri	114
1.4.1. Astrovirüs	114
1.4.1.1. Tarihçe	114
1.4.1.2. Morfoloji ve Sınıflandırma	115
1.4.1.2.1. Virion Yapısı	115
1.4.1.2.2. Genom Organizasyonu	116
1.4.1.2.3. Yapısal Proteinler, Virionların Toplanması ve Hücre Yayın Ekspresyonu	117
1.4.1.2.4. Replikasyon Döngüsü	118
1.4.1.2.5. Genetik Çeşitlilik ve Sınıflandırma	120
1.4.1.3. Patogenez	121
1.4.1.4. Epidemiyoloji	121
1.4.1.5. Klinik	123
1.4.1.6. Tanı	124
1.4.1.7. Tedavi	125
1.4.2. Norovirüs	125
1.4.2.1. Tarihçe	125
1.4.2.2. Morfoloji ve Sınıflandırma	126
1.4.2.2.1. Taksonomi ve Virüsün Yapısı	126
1.4.2.2.2. Genomik Yapısı	126
1.4.2.3. Patogenez	129
1.4.2.4. Epidemiyoloji	130
1.4.2.5. Klinik	130

1.4.2.6. Tanı	131
1.4.2.6.1. Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklere Dayanan Tanı Kriterleri	131
1.4.2.6.2. Elektron Mikroskopisi	132
1.4.2.6.3. Norovirüs Antijen Tespiti	132
1.4.2.6.4. Enzim İmmünoassay	132
1.4.2.6.5. İmmünokromatografik Yöntemler	133
2.4.2.6.6. Moleküler Tanı Yöntemleri	134
1.4.2.7. Tedavi	135
1.4.3. Adenovirüs	136
1.4.3.1. Tarihçe	136
1.4.3.2. Morfoloji ve Sınıflandırma	137
1.4.3.2.1. Virüsün Özellikleri	137
1.4.3.2.2. Adenovirüs 'ün Replikasyonu	137
1.4.3.2.3. Serotiplerin Önemi	139
1.4.3.2.4. Serotip Prevalansı	139
1.4.3.3. Patogenez	140
1.4.3.4. Epidemiyoloji	140
1.4.3.5. Klinik	141
1.4.3.6. Tanı	144
1.4.3.7. Tedavi	146
1.4.4. Rotavirüs	146
1.4.4.1. Tarihçe	146
1.4.4.2. Morfoloji	147
1.4.4.2.1. Virüs Yapısı	147
1.4.4.2.2. Virüsün Hücre İçine Girişi ve Replikasyonu	150
1.4.4.2.3. <i>Rotavirüs</i> Replikasyon Döngüsü	150
1.4.4.3. Patogenez	151
1.4.4.4. Epidemiyoloji	153

1.4.4.5. Klinik	154
1.4.4.6. Tanı	157
1.4.4.7. Tedavi	158
2. GEREÇ VE YÖNTEM	159
2.1. Direkt Mikroskopik İnceleme	159
2.2. Lugol Yöntemi	160
2.3. Modifiye Kinyoun Asid Fast Boyama	160
2.4. Moleküler Tanı	161
2.4.1. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel Sistemi İçeriği ve Kullanılan Ekipmanlar	162
2.4.2. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel Testi Çalışma Yöntemi	162
2.5. İmmünokromatografik Yöntemler	164
2.6. İstatistiksel Analiz	167
3. BULGULAR	168
4. TARTIŞMA	173
5. KAYNAKLAR	203
6. ÖZGEÇMİŞ	284

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Shigella spp. türlerinin sınıflandırılması	48
Tablo 2.	Shigella türleri arası biyokimyasal farklar	50
Tablo 3.	Shigella türleri arasındaki karbonhidrat kullanım farklılıkları	50
Tablo 4.	Rotavirüs'ün strüktürel (VP) /nonstrüktürel (NSP) proteinlerinin nitelikleri	149
Tablo 5.	Demografik veriler	168
Tablo 6.	Bakteriyel diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı	168
Tablo 7.	Paraziter diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı	168
Tablo 8.	Viral diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı	169
Tablo 9.	Viral diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı	169
Tablo 10.	Paraziter diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı	169
Tablo 11.	Bakteriyel diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı	170
Tablo 12.	Clostridium Difficile 'nin yaşa göre dağılımı	170
Tablo 13.	Diyare etkenlerine göre direkt mikroskopide saptanan bulgular	171

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Clostridium Difficile'nin erişkin hastalarda ishal patogenezi	9
Şekil 2.	Salmonella bakterisinin barsak lümenine penetrasyonu	40
Şekil 3.	Shigella türlerinin hücrel patogenezi	52
Şekil 4.	Cryptosporidium'a ait yaşam döngüsünde ookistlerin gelişim evreleri	71
Şekil 5.	Giardia intestinalis trofozoidinin mikroskopik ve elektron mikroskopik görünümü	85
Şekil 6.	Giardia İntestinalis'in yaşam döngüsü	87
Şekil 7.	Entamoeba histolytica nın morfolojik tipleri	101
Şekil 8.	Dışkıda transmisyon immünoelektron mikroskopisi ile gözlemlenen insan Astrovirüs partikülleri, fosfotungstik asit ile negatif olarak boyanmıştır.	116
Şekil 9.	Human (İnsan) Astrovirüs'ünün genom organizasyonu ve poliprotein ürünleri	117
Şekil 10.	Astrovirüs'ün replikasyon döngüsü	119
Şekil 11.	Astrovirüs'lerde kaspaz aktivasyonu	120
Şekil 12.	Norovirüs'ün elektron mikroskop ile görünümü	127
Şekil 13.	Norovirüsün genomik yapısı	128
Şekil 14.	Rotavirüs elektron mikroskopisi altındaki görünümü	147

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	Cryptosporidium Parvum ookistinin mikroskopik görünümü	161
Resim 2.	BD MAX enterik bakteriyel panel	161
Resim 3.	Çalışmamızda kullanıldığımız CerTest Biotec card test kitleri	165
Resim 4.	CerTest card test yöntemi ile bakılan parazit, virüs ve C. Difficile toksin A ve B'nin tespiti.	166



KISALTMALAR DİZİNİ

AAstV	: <i>Avastrovirus</i>
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	: Yaygın Otoimmün Yetmezliği
AF	: Auraminfenol
ALA	: Amebik Karaciğer Absesi
AMP	: Adenozin Mono Fosfat
AO	: Acridine Orange
AR	: Auramin-Rhodamine
ARD	: Akut Respiratuar Hastalık
AstV	: <i>Astrovirüs</i>
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAR	: <i>Coxsackie-Adenovirus</i> Reseptör
CCFA	: Cycloserinecefoxitine Fructose Agar
CDC	: Amerika Birleşik Devletleri Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi
CDE	: <i>Clostridium Difficile</i> Enfeksiyonu
Cl	: Klor
CMV	: <i>Sitomegalovirüs</i>
COWP	: <i>Cryptosporidium</i> Ookist Duvar Proteini
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
EC	: Epitelyal Hücreler
EHEC	: <i>Enterohemorajik E. coli</i>
EIA	: Enzim Immuno Assay
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	: Elektron Mikroskobi
ENS	: Enterik Sinir Sistemi

ER	: Endoplazmik Retikulum
FDA	: Food and Drug Administration
Gb3	: Globotriaosylceramide-3
GBS	: Gullian Barre Sendromu
GDH	: Glutamat Dehidrogenaz
GLK	: Gaz Likit Kromatografisi
GMP	: Guanin Mono Fosfat
GTP	: Guanin Three Fosfat
HAdV	: <i>İnsan Adenovirüs 'ü</i>
HAstV	: <i>İnsan Astrovirüs 'ü</i>
HBGA	: Histo-Kan Grubu Antijeni
H2S	: Hidrojen Sülfid
HIV	: Human Immunodeficiency Viruse
HÜS	: Hemolitik Üremik Sendrom
ICTV	: Uluslararası Virüsleri Sınıflandırma Komitesi
IFA	: İmmün Floresan Antikor
IFN_γ	: İnterferon Gama
IL	: İnterlökin
IKM	: İmmün Kromatografik Yöntemler
IMS	: İmmünomanyetik Separasyon
Kg	: Kilogram
LPS	: Lipopolisakkarit
MALDI-TOF MS	: Matrix-Assisted Laser Desorption İonization-Time of Flight Mass Spectrometry
MAstV	: <i>Mamastrovirus</i>
Mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
RNA	: Ribonükleik Asit
NAAT	: Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
NEC	: Nekrotizan Enterokolit

NK	: Naturel Killer
Nm	: Nanometre
NSAID	: Nonsteroid Antiinflatuar İlaçlar
ORF	: Açık Okuma Bölgesi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pg	: Pikogram
PGE2	: Prostoglandin E 2
PMK	: Psödomembranöz Kolit
PMN	: Polimorfonükleer Nötrofil
RBC	: Red Blood Cell (Kırmızı Kan Hücreleri)
RES	: Retiküloendotelyal Sistem
RT-PCR	: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAF	: Sodyum Asetoasetik Asit Formalin
shET	: <i>Shigella</i> Enterotoksin
SMB	: Safranin Metilen Mavisi
SRSV	: Küçük Sarmallı Yapılı Virüsler
SRV	: Küçük Yuvarlak Virüsler
ssRNA	: Tek Sarmallı RNA
STEC	: <i>Shiga Toksin Üreten E. coli</i>
Stx	: <i>Shiga Toksin</i>
TCP-1	: T-Kompleks Protein 1 Delta
TNFα	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TRAP-C1	: <i>Cryptosporidium-1</i> Geninin Thrombospondin-Related Adhesive Proteini
TRAP-C2	: <i>Cryptosporidium-2</i> Geninin Thrombospondin-Related Adhesive Proteini
TSI	: Üç Şekerli Besiyeri
T3SS	: Tip 3 Sekresyon Sistemi
TTP	: Trombositopenik Purpura
WB	: Western Blot

1. GİRİŞ

Diyare dünya genelinde tanı konulan en yaygın klinik tabloların başında gelmektedir. Salgınlara sebep olmakla beraber endemik olarak bütün milletleri etkilediği belirtilmektedir. Bilhassa gelişmekte olan ülkelerde çocuk ölümlerinin temel sebeplerinden bir tanesidir. Dahası üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra tedavisi için en fazla antibiyotik kullanılan enfeksiyon türleri olduğu belirtilmektedir. Enfeksiyöz ishalli hastalıklar, dünya genelinde hastalık ve ölümlerin sebebi olarak ikinci sırada bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), her yıl 2 milyar insanda akut gastroenterit oluştuğunu ve her 7 dakikada bir çocuğun ölümüne sebep olduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte enfeksiyöz ishal sebeplerinden bir kısmının Guillian-Barre sendromu (*C. jejuni*), hemolitik üremik sendrom (*Enterohemorajik E. coli*) ve malnutrisyon (*Cryptosporidium* türleri) gibi klinik sendromlarla alakalı olmaları nedeniyle önemlerinin gittikçe arttığını bildirilmektedir (1).

İshal çoğunlukla gastrointestinal sistemin özellikle incebağırsak ve kalınbağırsak bölümünün bakteri, virüs ve parazitler gibi etkenlerle karşılaşması sonucu gerçekleşir (2). Bunlar arasında yer alan *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Clostridium difficile* (*C. difficile*), *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), *G. intestinalis*, *Rotavirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *Adenovirüs* ve *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) gibi mikroorganizmalar gastrointestinal enfeksiyonlarda artan sıklıkla görülmektedir (1).

Tedavinin temel ilkesi sıvı-elektrolit kaybının geri kazandırılması olmakla beraber, birtakım endikasyonlarda antibiyoterapi gerekmektedir. Gastroenteritler üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en fazla antibiyotik kullanılan enfeksiyon türüdür. Bununla beraber fazla miktarda yanlış antibiyotik kullanımının yaygın olması klinik tablonun ehemmiyetine, ekonomik ve bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması gibi başka problemleri de beraberinde getirmektedir (1).

İshale sebep olan etkenlerin hepsinin rutin testlerle belirlenebilmesi pek mümkün değildir. Bununla beraber dışkının direkt mikroskopik incelenmesi ve

muhtemel etkenlere ait antijenlerin hızlı testlerle belirlenmesi, salgın durumu haricinde etkeni belirlemede çoğunlukla yeterlidir. Hızlı şekilde tanı alan ishal hastalarının nedene yönelik tedavisi için bilgi sağlanmaktadır (1).

Bu çalışmada ishal etkenlerinin kaynaklarının bakteriyel, paraziter ve viral olarak sınıflandırılıp, hızlı antijen testleri ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bakteriyel, paraziter ve viral diyare etkenlerinin yaşa ve cinsiyete göre görülme ve tespit sıklığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Rutinde çalışılmayan *Norovirüs*, *Astrovirüs* gibi viral diyare etkenlerinin hızlı kart testlerle ishalleri hastalıklarda yerinin, sıklığının ve öneminin gösterilmesi amaçlanmıştır. Böylece bu etkenlerin saptanması, klinisyenlere doğru tanı ve tedavi yöntemi açısından yol gösterici olacaktır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Diyare

Normal bir insanda dışkılama günde üç kez ile üç günde bir arasında değişiklik gösteren 200-300 gram ağırlığında kıvamlı ve şekillidir. İshal (diyare) için literatürde çeşitli tanımlamalar bulunmaktadır. Dışkıdaki su oranının artması ve kıvamının gevşekleşmesi, dışkılama sayısının artması (≥ 3 kez/gün), oranının artması ($>200/250$ gram/günden fazla) olarak tanımlanabilmektedir. Bu tanımdan yola çıkarak ishal, günde üçten ve 200 gramdan fazla dışkılama olarak tanımlanmaktadır (3).

İshal süresine göre akut ve kronik şeklinde sınıflandırılmaktadır. Bir aydan daha kısa süren ishaller akut ishal, bir aydan daha uzun süren ishaller ise kronik ishal olarak isimlendirilmektedir. Diğer bir sınıflamada ise iki haftadan daha az süren ishallere akut; iki ile dört hafta arasında süren ishallere persistan; bir aydan uzun süren ishale de kronik ishal denilmektedir. İshalin pek çok sebebi bulunmaktadır. Yaş gruplarına göre değişiklik göstermekle beraber akut ishallerin büyük kısmı enfeksiyöz ishal niteliğini taşımaktadır. Bununla birlikte değişik ilaçlar, zehirli maddeler ve iskemi akut ishallerden sorumlu tutulmaktadır. Persistan ishallerin en yaygın sebebi *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*) olarak bildirilmiştir.

Kronik ishalller yaygın olarak nonenfeksiyöz sebeplerle oluşmaktadır (4). İshalle seyreden hastalıklar gelişmemiş ve gelişim göstermekte olan ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra 2. sırada ölüm nedeni olarak yer alır. Beş yaş altı çocuklarda ise ana ölüm nedenidir. İshal çoğunlukla gastrointestinal sistemin özellikle de incebağırsak ve kalınbağırsak bölümünün bakteri, virüs ve parazitler etkenlerle karşılaşması sonucu gerçekleşir (2). Bunlar arasında yer alan *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *C. jejuni*, *C. difficile*, *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Rotavirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *Adenovirüs* ve *C. parvum* gibi mikroorganizmalar gastrointestinal enfeksiyonlarda artan sıklıkla görülmektedir (1).

İshal, gelişmiş ülkelerde iş gücü kaybının, gelişmekte olan ülkelere ise ölümlerin en sık sebebidir. İshal bütün yaş gruplarında görülebilmekle birlikte en fazla çocuklarda ve yaşlılarda mortaliteye sebep olmaktadır. Dünya çapında her yıl yaklaşık 1,5 milyon çocuğun ishale bağlı hastalıklardan dolayı hayatını yitirdiği, bunun da büyük kısmının gelişmekte olan ülkelere olduğu belirtilmektedir (5).

İnvaziv gastroenteritlerin barsak mukozasında invazyon yapması sebebiyle ateş, karın ağrısı, tenesmus ve kanlı gaita gibi klinik tablolara sebep olduğu bilinmektedir. Bu şikayetlerin görüldüğü hallerde tanısal testlerle etiyojisi irdelenmelidir. Non invaziv enfeksiyonlar ise klinik olarak daha hafif seyir göstermekte olup, daha çok virüslerin ve bakteri zehirlerinin sebep olduğu gastroenterit türleridir. Tanı testlerinin yapılmasına gerek duyulmamaktadır. İnvaziv bakteriyel enfeksiyonlar içerisinde gelişimini tamamlamış ülkelere yaygın olarak görülen patojen *C. jejuni*dir (6). Bütün yaş gruplarında enfeksiyona sebep olmakla beraber beş yaş altındaki çocuklarda daha yaygın görüldüğü belirtilmektedir. Yaz aylarında daha fazla enfeksiyona sebep olmakla beraber immünsüprese hasta kişilerde dirençli ishallere sebep olan fırsatçı enfeksiyonların etkenidir. İkinci en yaygın olarak görülen invaziv ishal etkeninin *Salmonella* olduğu belirtilmektedir. Çoğunlukla kontamine olmuş gıda ve sular ile bulaş göstermektedir. Özellikle kümes hayvanlarının ürünleri ve kırmızı etten bulaş gösterirken, pastörize edilmemiş süt, yumurta, balık ve evcil hayvanlardan bulaşabildiği belirtilmektedir. İyi pişirilmiş gıdalar enfeksiyon bulaşma oranını düşürse de tam olarak engelleyememektedir.

İshal kaynaklı hastalıklar dünya genelinde bütün çocuk ölümlerinin %18'ini oluşturmaktadır (7). Gelişim göstermekte olan ülkelerde 2,5 milyar ishalleri dışarı görülürken, bunun %80'ini Afrika ve Güney Asya ülkelerinin oluşturduğu bildirilmektedir. Beş yaş altındaki çocuklarda bakteriyel ishal etkenleri ile ilişkili ölümler en çok *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) ve *Enterotoksijenik E. coli*ye bağlı görülmektedir (6). *Rotavirüs* gastroenteriti ise en yaygın görülen viral gastroenterit etkeni olarak bilinmektedir. Çocuklarda en yaygın ishal sebebi enfeksiyonlarla bağlantılı olmakla beraber gastroenterite neden olan virüsler rahat bulaş, kontamine olmuş ortamda uzun zaman boyunca kalabilme, fekal oral yolla bulaş gösterebilme kabiliyetleri sebebiyle çocuklarda ishallerin en yaygın sebebi konumundadır. Çocuğun vücut direncinin düşük olması, kalabalık ortamlarda yaşama, el ve bireysel temizliğin yetersiz olması, temiz su ve gıdaya ulaşımında problemler predispozan etkenler arasında yer almaktadır.

Viral ishal etkenleri içerisinde en çok görülenleri *Rotavirüs*, *Norovirüs* ve *enterik Adenovirüs* olarak sıralanabilir. Hastaneye başvuruların %20'sine ishaller sebep olurken, bunun büyük kısmını virüsler oluşturmaktadır (8). *Rotavirüs* çocuklarda en yaygın ishal sebebi olmakla beraber ağır su kaybı, hastaneye yatışlara ve ölümlere sebep olmasından dolayı hayati bir halk sağlığı problemidir. Bir diğer ishale sebep olan virüslerden *Norovirüs* çocuklarda yakın zamanda tanımlanmış ishal etkidir. Zaman zaman salgınlara sebep olması, ağır ishal, kusma ve karın ağrılarına yol açmasından dolayı hayati bir engellenebilir sağlık problemidir. Gerçekleştirilen araştırmalarda akut ishal şikayeti ile hastaneye gelen çocuklarda *Rotavirüs* 'ten sonra en yaygın şekilde görülen ishal virüsü olduğu gözlemlenmiştir (6).

Türkiye'de bakteriyel kaynaklı olmayan gastroenteritler ile ilişkili herhangi bir sörveyans çalışması bulunmamaktadır. İlk defa 2008 yılında Orta Anadolu'da ortaya çıkan bir ishal salgınında etkenin *Norovirüs* olduğu bildirilmiştir (9). 1998 yılından itibaren Türkiye'de ishal etkeni olarak belirlenen *Norovirüs* 'ler ile ilişkili yapılan bir araştırmada çocuklarda *Norovirüs* yaygınlığı %8,7 olarak saptanmıştır (10).

İshale sebep olan etkenlerin morbidite ve mortaliteyi etkilediği, bununla beraber bir takım karmaşık sendromlara da sebep olduğu belirtilmektedir. *Shiga toksini* oluşturan *E. coli* enfeksiyonunun ardından böbrek yetmezliği de dahil hemolitik üremik sendrom (HÜS), *C. jejuni* enfeksiyonunun ardından ise Guillain-Barre' sendromu gibi tablolarla sıkça karşılaşıldığı bildirilmektedir. Bu tabloların ağır seyreden uzun süreli hastalıklarla sonuçlanabildiği belirtilmektedir (11).

Etkenlerin bütününe rutin testlerle belirlenebilmesinin mümkün olmadığı belirtilmektedir. Bununla beraber gaitanın direkt mikroskopik incelenmesinin, gaitada yaygın olarak görülen patojenlerin antijenlerinin hızlı testlerle belirlenmesinin ve enterik bakteriyel etkenlere yönelik kültür yapılmasının, (salgın gibi özel haller dışında muhtemel etkeni belirlemede) genel olarak yeterli olduğu belirtilmektedir. Bulaşıcı ishallerle ilişkili olgular 1989 yılından itibaren bildirilmesi zorunlu olan hastalık olduğu halde, olguların büyük kısmı yalnızca klinik tanıya dayandırılarak rapor edilmektedir (12).

Tedavinin ana ilkesi sıvı-elektrolit kaybının geri kazanılması olmakla beraber, kimi endikasyonlarda antibiyoterapi gerektiği vurgulanmaktadır. Gastroenteritlerin tedavisi için üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en yaygın antibiyotik kullanılan enfeksiyon türü olduğu vurgulanmaktadır. Bununla beraber fazla miktarda yanlış antibiyotik kullanımının yaygın olması klinik tablonun önemine, ekonomik kayıplara ve bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması gibi başka problemlere de yol açtığı bildirilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerin teknik olarak yetersiz laboratuvarlarında ishale sebep olan bakterilerin büyük kısmının tanısının ve sürveyansının kesin olarak yapılabilmesi oldukça zordur. Bundan dolayı dönem dönem etkenlerin saptanması ve bilhassa bakteriyel olanların antibiyotik direnç/duyarlılıklarının bilinmesi son derece önem taşımaktadır (13).

1.2. Bakteriyel Diyare Etkenleri

1.2.1. Clostridium Difficile

1.2.1.1. Tarihçe

Clostridium difficile ilk defa 1935' te Hall ve O'Toole (14) tarafından sağlıklı yenidoğanların bağırsak florasında saptanmış ve bağırsak hastalığı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Kültürünün yapılması son derece zahmetli olduğundan bu bakteriye güç (difficult) manasında "*Clostridium difficile*" (*C. difficile*) adı verilmiştir. Antibiyotikle ilişkili barsak rahatsızlıkları üzerine 1940 ve 1950'li yıllarda hayvan modellerinde çalışmalar yapılmıştır. *C. diffcilenin* ekzotoksinleri, 1960 ve 1970'li yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarda belirlenip, psödomembranöz kolit (PMK) ile ilişkisi saptanmış, daha sonrasında ise antibiyotikle ilişkili ishale sebep olan en önemli etken olarak tanımlanmıştır (15, 16).

1.2.1.2. Morfoloji

Clostridium difficile anaerop, subterminal sporlu, hareketli, kapsülsüz, 0,5-2 µm eninde, 3-17 µm boyunda gram pozitif bir basildir. Genç kültürlerinde her zaman gram (+) boyanma özelliği göstermektedir, yaşlı kültürlerinde ise gram (-) boyanmaya eğilim göstermektedir. Adi besiyerlerinde ürese de içerisinde kan, fruktoz ve yumurta bulunan besiyerlerinde daha rahat üremektedir. En uygun üreme sıcaklığı 37°C, pH'sı 7-7,2'dir. Bakterinin koloni özellikleri iyi tanımlanmıştır. Uygun besiyerlerinde 48 saatlik inkübasyon sonucunda 2-4 mm çapında düzgün yüzeyli, çevreye yayılma niteliğinde olan tipik koloniler oluşturmaktadır. Kolonilerin kendine özgü diğerlerinden ayrılan, at dışkısına benzer bir kokusu bulunmaktadır. Koloniler uzun dalga boyundaki ultraviyole ışığı altında irdelendiğinde, açık yeşilden sarıya kadar farklılık gösterebilen bir hale ile çevrilidir ve buzlu cam şeklinde görülmektedir. Bakterinin gaita gibi kontamine numunelerden izole edilmesinde, içerisinde farklı antimikrobiyal ajanlar bulunan Cycloserine Cefoxitine Fructose Agar (CCFA) gibi seçici besiyerleri kullanılmaktadır. Orijinal formülasyonda bu besiyerine egg-yolk eklenirken,

bulunmadığı durumlarda at kanı da kullanılabilineceği belirtilmektedir. İndikatör olarak nötral kırmızısının kullanıldığı CCFA besiyerinin 48 saat anaerop koşullarda inkübe edilmesinden sonra *C. difficile*, çevresi sarı halka ile sarılı 3 mm ya da daha büyük çaplı, filamentöz kenarlı, buzlu cam şeklinde P-cresol veya at dışkısı benzeri ayırıcı kokuya sahip koloniler oluşturmaktadır (17).

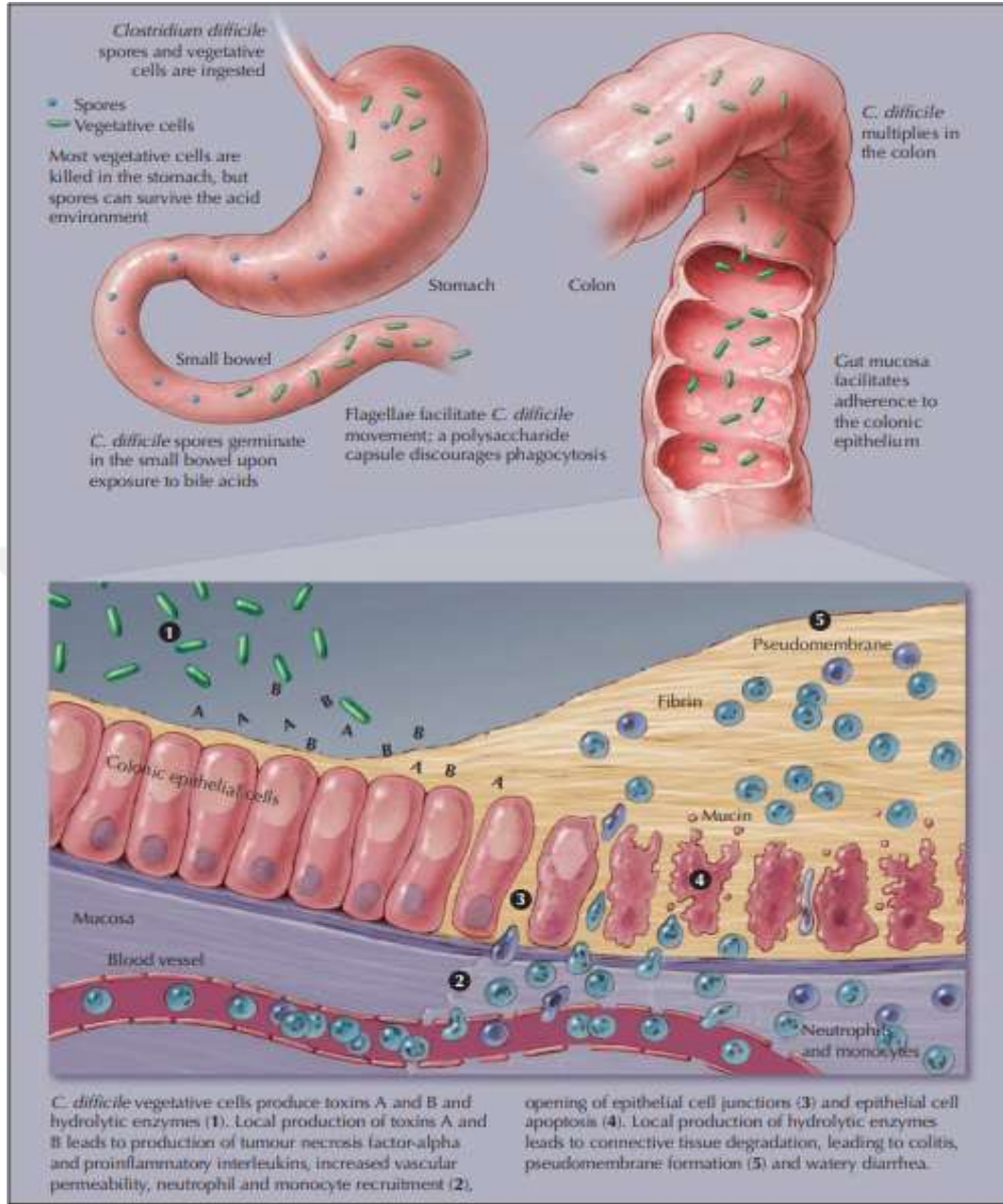
1.2.1.3. Patogenez

Clostridium difficile kolitinin patogenezinde, normal kolonik bakteri florasının antibiyotiklerle bozulması yatar (18). *C. difficile* koliti, hastanede yatan hastalarda enfeksiyöz ishalin en sık teşhis edilen nedenidir (19). *C. difficile* patojenik suşları, iki güçlü toksin olan enterotoksin toksin A ve bir sitotoksin olan toksin B üretir. Bu yüksek moleküler ağırlıklı proteinler, kolonik epitelyumun lümen yönündeki spesifik reseptörlere bağlanır ve daha sonra sitoplazmaya taşınır (20). Hücreye girdikten sonra, her iki toksin de aktin polimerizasyonu, hücre iskeleti yapısı ve hücre hareketinde önemli olan küçük GTP bağlayıcı protein ailesi olan Rho proteinlerinin spesifik bir değişimini katalize eder. Toksinler A ve B, Rho üzerindeki belirli bir treonine glikoz parçası eklenmesini katalize eder (21). Rho'nun bu modifikasyonu, aktin filamanlarının depolimerizasyonuna, hücre iskeletinin bozulmasına, hücre yuvarlanmasına ve hücre ölümüne yol açar. Kolera toksininin veya *E. coli* ısıya dayanıklı toksinin aksine, *C. difficile* toksinlerinin hücre içi siklik AMP veya GMP seviyeleri üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Bununla beraber, son kanıtlar *C. difficile* toksinlerinin genel etki mekanizmasının Rho proteinlerini hedef alan bir dizi başka bakteriyel toksin tarafından paylaşıldığını göstermektedir. *Clostridium sordellii* (*C. sordellii*) ve *Clostridium novyi* (*C. novyi*)'den sitotoksinler Rho'ya bir glikoz ve *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)'tan toksinler ekler ayrıca Rho ailesi proteinlerini modifiye eder. Böylece, *C. difficile* toksinleri ve diğer bakteriyel sitotoksinlerin, ökaryotik hücreler içinde aktin filament oluşumunu düzenleyen Rho ailesi proteinlerine saldırarak hücre yapısını ve işlevini değiştirdiği görülmektedir (21).

*Clostridium difficile*nin her iki toksini de insan kolon epitel hücrelerine bağlanır ve onlara zarar verir (22). Tavşan ileumda, fırça sınır disakkaridaz, sükraz-

izomaltaz, *C. difficile* toksin A'yı bağlar ve enterotoksisiteye aracılık eder (23). Bu enzim insan kolon mukozasında bulunmadığından, diğer membran yüzeyi glikoproteinleri insan *C. difficile* kolitinde toksin reseptörleri olarak işlev görür. *C. difficile* toksinleri tarafından üretilen kolon yaralanması, enterosit hücre iskeletinin sıkı birleşme fonksiyonunun bozulmasıyla değişmesinden kaynaklanmaktadır (22). Toksinler ayrıca lamina propiada ciddi bir inflamatuvar reaksiyona ve bir inflamatuvar psödomembran tarafından kapsanan kolon mukozasının mikröülserasyonlarının oluşumuna neden olur. Psödomembranlar 2-4 mm çapında sarı veya beyaz plaklardır ve bunlar sigmoidoskopi veya kolonoskopide kolayca görülebilir. *C. difficile* kolitinde toksin A ve B'nin bağırsak epiteline giriş ile beraber meydana getirdiği değişimler şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir. Psödomembranöz kolit histolojisi, zirve veya volkan lezyonu olarak adlandırılan inflamatuvar hücreler, fibrin ve nekrotik döküntülerin bir eksüdası ile kaplanmış kolon mukozasının fokal ülserasyonunu gösterir (24).

Normal yetişkinler nadiren *C. difficile* taşırken, normal bebeklerin yaklaşık %50'si yaşamın ilk 12 ayı boyunca taşıyıcıdır. Bebek dışkısında yüksek toksin konsantrasyonunun varlığına rağmen, bu patojene atfedilen ishal veya kolit bebeklerde nadirdir. İnsan yenidoğanlarının da spesifik reseptörlerden yoksun olup olmadığı henüz bilinmemektedir, bu da onları *C. diffcilenin* etkilerine duyarsız kılmaktadır (25).



Şekil 1. *Clostridium difficile*'nin erişkin hastalarda ishal patogenezi (26)

1.2.1.4. Epidemiyoloji

Yaygın antibiyotik kullanımından kısa süre sonra antibiyotikle ilişkili ishal ve kolit tespit edilmiştir (27). 1978 yılında, antibiyotikle ilişkili kolit vakalarının çoğunda *C. difficile* patojen olarak tanımlanmış; birçok olgu klindamisin kullanımı sonrası izlenmiştir (27).

2003-2006 yılları arasında *C. difficile* enfeksiyonunun (*CDE*) daha sık, şiddetli, standart tedaviye dirençli olduğu ve daha fazla nüksetme olasılığı olduğu izlenmiştir (27). Bu izlemler Kuzey Amerika ve Avrupa genelinde bildirilmiştir ve BI, NAP1 veya ribotip 027 olarak adlandırılan yeni bir suşun ortaya çıkmasına bağlanmıştır. Bu suş önceki suşlara göre daha fazla toksin üreterek daha virülen hale gelmiştir. Florokinolon kullanımı bu suşun ortaya çıkması ile güçlü bir ilişki göstermektedir ve florokinolon direncinin gelişimi, *CDE* salgınlarının sıklığının artması ile ilişkili görülmüştür (28).

Clostridium difficile enfeksiyonu esas olarak hastanede yatan hastalarda görülür ve ABD'de yılda üç milyon kadar ishal ve kolit vakasına neden olur (29). Buna karşın, ayakta tedavi gören hastalarda yılda sadece 20.000 vakanın teşhis edildiği tahmin edilmektedir (30).

Clostridium difficile, hastalar tarafından kullanılan antibiyotiğe dirençli sporlar olarak hastane ortamında hayatta kalır. Organizma ve sporlar tuvaletler, banyo zeminleri, telefonlar, çağrı düğmeleri, stetoskoplar ve sağlık çalışanlarının ellerinde gösterilebilir (29). Enfeksiyon için bilinen bir tehlike etkeni, bir hastane odasını enfekte bir hastayla paylaşmaktır (29). Bu nedenle, çapraz enfeksiyon hastadan hastaya yayılma veya çevresel kontaminasyon ile ortaya çıkabilir (20-29). Enfeksiyonun yayılması, hastaların incelendikten sonra dikkatli ellerin yıkanması ve tek kullanımlık eldivenlerin kullanılmasıyla kesintiye uğrayabilir. Antibiyotik tedavisi *C. difficile* enfeksiyonu için ana risk faktörüdür ve akılcı antibiyotik kullanımı *C. difficile* ishal ve kolitini önlemenin en etkili yoludur (31).

1.2.1.5. Klinik

Clostridium difficile enfeksiyonu, asemptomatik taşıyıcı durumdan megakolon veya perforasyon ile fulminan kolite kadar geniş klinik bulgulara neden olabilir. Bu aşırı değişkenliğin temeli tamamen açık değildir. Ancak konakçı faktörler bakteriyel virülans faktörlerinden daha önemli görünmektedir. Asemptomatik bebek veya yetişkin taşıyıcılar, şiddetli ishali olan semptomatik hastalar ile aynı toksigenik suş ile kolonize edilebilir (32). Bazı bebek taşıyıcıları dışkılarında ishal veya kolit olmadan çok yüksek toksin seviyelerine sahiptir.

Önemli konak yanıt faktörleri arasında toksin reseptör yoğunluğu, antitoksin antikör seviyeleri ve bariyer florasının varlığı veya yokluğu bulunabilir (33).

Clostridium difficile ishal başlangıcı genellikle antibiyotik tedavisinin başlamasından 4-9 gün sonra meydana çıkmaktadır. Bununla birlikte, antibiyotikler kesildikten sonra hastaların üçte birinde diyare gelişir, bu da tanısal karışıklığa neden olabilir. Kanser kemoterapisi kolonik mikroflorayı bozabilir ve *C. difficile* kolonizasyonu, ishal ve kolite yol açabilir (33).

1.2.1.5.1. Basit Antibiyotikle İlişkili İshal

Antibiyotiklerle tedavi sırasında hafif ishal yaygındır, ancak bu vakaların sadece %20'si *C. difficile* ile ilişkili görünmektedir. Kalan kısımda ishal, emilmemiş karbonhidratın ozmotik etkisi ile ilgilidir. İshal sulu, mukus içerir ancak kan içermez. Sigmoidoskopik muayenede normal kolon mukozası ya da hafif ödem veya rektum hiperemik olarak ortaya çıkar. Açık kolit veya psödomembran oluşumu meydana gelmez. Sistemik semptomlar yoktur ve hastaların çoğunda antibiyotikler kesildiğinde ishal durur (34).

1.2.1.5.2. Clostridium Difficile'nin Asemptomatik Taşınması

Hastane epidemiyolojik çalışmaları, *C. difficile* ile enfekte hastaların çoğunun asemptomatik taşıyıcılar olduğunu göstermektedir (34). Bu hastalar sessiz bir enfeksiyon taşıyıcısı olarak hareket eder ve muhtemelen hastane ortamındaki *C. difficile* kontaminasyonunu devam ettirir (34). Semptomsuz taşıyıcıların metronidazol ya da vankomisin ile tedavisi önerilmemektedir, çünkü bu taşıyıcılık halini uzatabilir (35).

1.2.1.5.3. Clostridium Difficile Psödomembran Oluşumu Olmayan Kolit

Psödomembranları olmayan kolit, iyi huylu veya basit antibiyotikle ilişkili ishalden daha ciddi bir hastalık oluşturur. Malaise, karın ağrısı, mide bulantısı, iştahtan kesilme ve sulu ishal bulunmaktadır. Hastalar tipik olarak diyare ile hafifleyen karın ağrısı ve kramplardan şikayet ederler. Ayrıca dehidrasyon ve düşük dereceli ateş de gösterebilirler. Sistemik bir polimorfonükleer lökositoz yaygındır.

Sigmoidoskopik muayenede psödomembranlar olmadan spesifik olmayan yaygın veya düzensiz eritematöz kolit görülebilir (36).

1.2.1.5.4. Psödomembranöz Kolit

Psödomembranöz kolit, *C. difficile* kolitinin karakteristik özelliğidir. Psödomembranları olmayan kolitli hastalara benzer, ancak genellikle daha şiddetli semptomlar eşlik eder. Sigmoidoskopik muayenede, klasik psödomembranlar, kolorektal mukozaya dağılmış 2–10 mm çapında değişen sarı plaklar ortaya çıkar. Psödomembranöz kolitli hastaların çoğunda rektosigmoid alan tutulumu vardır, ancak önemli bir azınlıkta daha proksimal kolona izole edilen psödomembranlar vardır, bu nedenle sigmoidoskopi ile tanımlanmamıştır. Psödomembranöz kolitli hastaların batın bilgisayarlı tomografi taraması, tüm kolonu içerebilecek kolon duvarında belirgin kalınlaşma olduğunu ortaya koymaktadır (37).

1.2.1.5.5. Fulminan Kolit

Clostridium difficile enfeksiyonunda fulminan kolit hastaların sadece %3'ünde görülür. Ancak perforasyon, uzamış ileus, megakolon ve ölüm gibi ciddi komplikasyonların çoğunu oluşturur. Fulminan kolitli hastalar şiddetli alt veya yaygın karın ağrısı, ishal ve distansiyondan şikayetçidir. Kimi hastalarda yüksek ateş, titreme ve belirgin lökositoz, 40.000 beyaz kan hücresi/ μ L görülür. İshal genellikle belirgindir, ancak ileus gelişen hastalarda dilate, atonik kolonda sekresyonların birikmesinden dolayı minimal şekilde izlenebilir. Hipoalbuminemi, ciddi bir protein kaybına neden olan enteropati nedeniyle de ortaya çıkabilir. Toksik megakolon, şiddetli toksisite belirtileri ve semptomları (ateş, titreme, dehidrasyon, yüksek beyaz sayım) ile birlikte dilate kolon (en büyük çapından >7 cm) bulgularına dayanarak gelişebilir ve teşhis edilir. Megakolonlu hastalar, bağırsak tıkanıklığını veya iskemiyi taklit eden hava-sıvı seviyelerine sahip düz karın grafilinde dilate ince bağırsağa sahip olabilirler (38).

Fulminan *C. difficile* enfeksiyonu olan bazı hastalar bağırsak perforasyonunun semptomları ve bulguları ile ortaya çıkabilmektedir. Tipik şekilde, bu tip hastalar ayrıca karın sertliği, rebound, defans ve azalmış bağırsak

seslerine sahiptir. Abdominal radyografiler serbest karın havasının varlığını ortaya çıkarabilir (38).

Fulminan *C. difficile* enfeksiyonu olan hastalarda daha fazla morbidite veya mortaliteyi önlemek için agresif tanı ve terapötik müdahaleler gereklidir (38). Yatak başında sınırlı esnek sigmoidoskopi veya kolonoskopi yapılabilir, ancak perforasyon riski nedeniyle sadece minimum miktarda hava verilmelidir. Rektum veya sigmoid kolonda psödomembranların varlığı, *C. difficile* kolitinin olası bir tanısını koymak için yeterlidir. Karın bilgisayarlı tomografisi taraması da koliti göstermek ve perforasyon veya abse oluşumunu belirlemek için faydalı bir tanı testidir. Çok yüksek lökositoz ($>30-80,000$), ateş, hipotansiyon ve metabolik asidoz varlığı, fulminan kolitte tehlike belirtileridir ve yaklaşan veya gerçek perforasyonu olan hastalarda laparotomi ve kolektomi ihtiyacını gösterebilir (38, 39).

1.2.1.5.6. Tekrarlayan Enfeksiyon

Clostridium difficile ishali, ilk atağı açısından tedavi edilen hastaların yaklaşık %15-20'si başarılı tedaviyi takiben nüksedecektir. Nüks, genellikle vankomisin veya metronidazol ile tedaviyi bıraktıktan sonra 7 gün içerisinde ishalin ve öteki belirtilerin tekrardan ortaya çıkmasıyla kendini gösterir. Bir kez nükseden hastalar, daha fazla nüks için daha büyük bir tehlike altında bulunmaktadır ve daha önce iki ya da daha fazla nüks yaşayan hastalarda nüks oranı %65'tir (40). Relaps, antibiyotik direnci ile ilişkili değildir ve bakteri, metronidazol veya vankomisin ile daha ileri tedaviye duyarlı kalır. Nüksün bağırsaktaki kalıcı organizmalara mı yoksa hastanın ortamından yeniden enfeksiyona mı bağlı olduğu net değildir. Metronidazol veya vankomisin ile tedavi, kolonik mikrofloranın bozulmasını devam ettirir ve bu nedenle *C. difficile* ile yeniden enfekte etmeye yatkın olabilir. Nüks için olası mekanizmalar; *C. difficile* sporlarının kontaminasyonundan dolayı reenfeksiyon, son antibiyotik tedavisi (metronidazol veya vankomisin) nedeniyle *C. difficile* kolonizasyonuna karşı sürekli duyarlılık ve *C. difficile* toksinlerine karşı bozulmuş konak immün yanıtı sayılabilir (35).

1.2.1.5.7. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olan Hastalarda C. Difficile Enfeksiyonu

Clostridium difficile enfeksiyonu ülseratif kolit veya Crohn hastalığının seyrini ağırlaştırabilir. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalar genellikle antibiyotiklere maruz kalırlar ve sıklıkla hastaneye kaldırılırlar ve bu da hastaların *C. difficile* ile karşılaşma riskini artırır. *C. difficile* ile enfekte olan hastalar, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının alevlenmesini taklit eden ishal, karın ağrısı ve düşük dereceli ateş geliştirir. Dışkı örneğinde *C. difficile* toksinin tanımlanması ile teşhis konur. *C. difficile* enfeksiyonları, metronidazol veya vankomisin ile uygun tedaviye hızlı yanıt verir. Bazı hastalarda, inflamatuvar bağırsak hastalığının ilk alevlenmelerinin başlangıcında *C. difficile* koliti gelişir, bu da önemli tanısal karışıklığa neden olabilecek bir durumdur. Ülseratif kolit ya da Crohn hastası olan bireylerde *C. difficile* enfeksiyonu, hızlı tanı ve tedavi gerektirir, çünkü enfeksiyonun teşhis edilmemesi kortikosteroidler veya immünsüpresif ajanlar ile uygun olmayan tedaviye yol açabilir (41, 42).

1.2.1.6. Tanı

Hasta kişilerde 36 saat içerisinde en az altı kez sulu ishal, 48 saat içerisinde sekizden fazla şekilsiz ishal ya da iki gün için günde üç kez şekilsiz ishal bulunması klinisyenlere *CDE* varlığı şüphesi uyandırmalıdır (43).

Doğru, güvenilir ve hızlı tanı bilhassa hastane kökenli *CDE*'lerin kontrol altına alınabilmesi ve hastanın takip altında tutulması bakımından son derece önem taşımaktadır. *CDE* tanısı, antibiyotik kullanım öyküsü bulunan ishallerde, laboratuvar sonuçlarıyla desteklenerek konulan klinik bir tanı şeklidir. Hastanede antibiyotikle ilişkili ishal oluşan hasta kişilerin neredeyse %30'unda sebep *CDE*'dir ve tanı testleri kullanılmadan ampirik tedavinin uygulanması uygun değildir. Semptomsuz taşıyıcılarda yalancı pozitiflik görülebileceğinden dolayı tanı testlerinin yapılması tavsiye edilmektedir (44).

Clostridium difficile toksinleri ısıya karşı dirençsiz olduğu için dışkıların laboratuvara buz içerisinde gönderilmesi gerekmektedir; dışkı çalışma süresi ile bağlantılı olarak buzdolabında 2-3 gün, daha uzun süre bekletilmesi durumunda -

70°C'de muhafaza edilmelidir. Oda ısısında ve -20°C'de toksinde zaman içerisinde azalmalar meydana gelmektedir. Sitotoksin aktivitesi 22°C'de muhafaza edilen gaitalarda 2 log azalma meydana gelmektedir (44).

Bunun haricinde ishalleri olmayan şekilli (solid) dışkıda toksin araştırılması ile uslu bireylerde örnek olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. Belirtilerin başlangıç esnasında alınan bir ya da iki örnek çoğunlukla tanı için yeterli olmaktadır. Birinci örneğin negatif çıkması durumunda ek dışkı örneği ile testin tekrardan yapılması yararlı olabilmektedir. Üç değişik gaita numunesinin test edilmesi pozitiflik oranını %10 civarında yükselttiği halde maliyeti artırdığından dolayı önerilmemektedir (44).

Teşhiste; endoskopik incelemeler, düz karın grafisi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve laboratuvar teşhis yöntemlerine başvurulmaktadır (44).

1.2.1.6.1. Endoskopik İnceleme

Girişimsel, maliyetli ve uzman yardımına ihtiyaç duyulan bir metottur. Endoskopik incelemede eritemli, ödemli, ağır inflamasyonlu, spesifik psödomembranlar görülmektedir; yüzeyden kabarık 2-10 mm çapında normal mukoza ile çevrili lezyonlar tipiktir; ağır vakalarda lezyonlar plaklar meydana getirmek üzere birleşmektedir. Histopatolojik incelemede plakların fibrin, mukus, nekrotik epitel hücreleri ve lökositlerden meydana geldiği görülmektedir. Daha hafif seyirli vakalarda plak oluşumu görülmemektedir; yalnızca yaygın mikroskobik kolit saptanmaktadır (45).

Çoğunlukla distal kolon tutulduğundan vakaların büyük kısmında (%65-70) sigmoidoskopi yeterli gelebildiği vurgulanmaktadır. Vakaların üçte birinde lezyonlar sağ kolonda yerleşmektedir ve böyle hallerde kolonoskopi gerekmektedir. Endoskopik inceleme invaziv, maliyetli ve uzman yardımına ihtiyaç duyulan bir metottur. PMK'da duyarlılığı %51, spesifikliğı hemen hemen %100 olarak belirtilmektedir. Sitomegalovirüs (CMV) kolitinde de psödomembranöz kolit (PMK) görünümü olabileceği hatırlanmalıdır (46).

1.2.1.6.2. Radyolojik İnceleme

Direkt radyolojik incelemeler çoğunlukla spesifik olmayan sonuçlar vermektedir. Kilitli vakalarda düz grafide distansiyonla beraber belirgin ödem ve haustraların şeklinde bozulmalar olduğu saptanmaktadır (46).

BT'nin çoğunlukla karmaşık *CDE* vakalarında kullanılması önerilmektedir. BT'de kolona kısıtlı değişimler saptanmaktadır. Kolonda 4 mm'den fazla kalınlaşma, kolon duvarında nodüler haustral kalınlaşma (akordeon bulgusu), diğer bir sebeple açıklanamayan asit BT ile belirlenebilen değişimlerdir. Değişimler fokal ya da pankolonik olabilmektedir. BT'nin hassaslığı %52-88, spesifikliği %48-93, pozitif olma olasılığı %88, negatif olma olasılığı %67 olarak gözlemlenmiştir (47).

1.2.1.6.3. Laboratuvar Metodları

*Clostridium difficile*nin tespit edilmesinde duyarlılıkları farklı olan farklı klinik mikrobiyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Mikroskopik inceleme, kültür, sitotoksosite ya da immünolojik yöntemlerle Toksin A/B aranması, moleküler yöntemler, kromotografik teknikler bu yöntemlerin içerisinde yer almaktadır (48).

1.2.1.6.4. Mikroskopik İnceleme

Antibiyotikle alakalı ishal haricindeki durumlarda gaitada eritrosit ve lökositler bulunmaktadır. Dışkı gram boyaması yapıldığında, florada meydana gelen değişimleri gösteren baskın bakteri türleri görülebilmektedir, fakat duyarlılık ve özgülük problemleri bulunmaktadır. Direkt floresan antikor metodunun toksin araştıran testlere %92 oranında uyumlu olduğu gözlemlenmiştir, fakat aynı metotla sağlıklı bireylerde %62 oranında pozitif sonuçlar saptanmıştır. Yalancı pozitifliğin sebebi *C. difficile* ile ortak antijenlere sahip olan *C. bifermentas* (*C. bifermentas*)/*Clostridium sordelii* (*C. sordelii*)'dir (48).

1.2.1.6.5. Hücre Kültürü Sitotoksosite Nötralizasyon Deneyleri

Uzun zamandır hücre kültürü sitotoksosite metodu, klinik örneklerde toksin (toksin B) varlığını direkt olarak gösterebildiğinden dolayı referans metot olarak kabul görmektedir. Bu metotla toksin B'nin 10 pg miktarı saptanabilmektedir. Toksin *C. difficile* veya çapraz reaksiyon veren *C. sordelii* antitoksini ile

doğrulanması gerektiği vurgulanmaktadır. Sitotoksinin saptanması için Vero hücreleri, Hep 2 hücreleri, Mc Coy hücreleri, insan diploid ve MRC-5 akciğer fibroblast hücre kültürlerine başvurulmaktadır (49). Bu hücreler 24-48 saat inkübe edildikten sonra sitotoksinle ilişkili sitopatik etki gözlemlenmektedir. Sitopatik etkinin gözlemlenmesi durumunda, hem *C. sordellii* hem de *C. difficile* antiserumları kullanılarak nötralizasyon deneyleri uygulanmaktadır. İlk olarak toksin B'yi tespit eden bu metodun birtakım ölçümlerde toksin A'yı da saptayabildiği belirtilmektedir. Bu metodun başarısını etkileyen değişik etkenler bulunmaktadır. Örneğin transportunda gecikme olması durumunda, örnekteki toksin indirgendiğinden dolayı yanlış negatif sonuçlara ulaşılabilmektedir (50). Testin spesifikliğı %97 oranındadır buna karşılık duyarlılığı %75-85 arasında değişmekte olup, toksijenik kültüre göre daha düşük duyarlılığa sahip olduğu belirtilmektedir. Maliyetli, fazla zaman gerektirmesi ve hücre kültür alt yapısını gerektirdiğinden rutin laboratuvarlarca sıkça tercih edilmemesine sebep olmaktadır (51).

1.2.1.6.6. Kültür

Anaerobik dışkı kültürleri, *C. difficile* tespiti için en duyarlı testlerdir. Test yüksek maliyetli değildir, fakat 2 ile 5 gün içerisinde sonuç vermektedir. Hücre kültürü ile kombine edildiğinde, yüksek duyarlılığa (%94-100) ve spesifikliğı (%99) ulaşılmaktadır (52). Kültür için fekal numune, gaita, rektal swab ya da perirektal swab en cazip örnekleri oluşturmaktadır (53). En sık kullanılan besiyeri CCFA'dır. *C. difficile* indikatörlü CCFA besiyerinde ultraviyole lambası altında irdelendiğinde floresans veren, hemen hemen 2-4 mm çapında, altın sarısı renginde koloniler oluşturmaktadır. *C. difficile*, kanlı agar besiyerinde, 48 saatlik anaerob inkübasyonun ardından, hemolizsiz, at dışkısı kokusunda, sarımsı-yeşil floresans veren yaklaşık 2-4 mm çapında koloniler meydana getirmektedir (48).

Gram boyamada koloniler tipik gram (+) ya da gram (-) basil şeklinde gözükmektedir. Kültürde üreyen kolonilerden, MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) kullanılarak tespit edilebilmektedir. *C. difficilenin* antibiyotikle bağlantılı diyareye sebep olduğunun ortaya çıkarıldıktan sonra çevresel ve klinik örneklerden bakterinin izole edilmesini

kolaylaştırmak için farklı metotlar geliştirilmiştir. Dışkı 1/1 oranında saf etil alkol ile karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında en az 45 dakika bekletilmesi (alkol şok yöntemi) sonucunda, kontaminant bakterilerinin büyük kısmının ortadan kaldırıldığı ve *C. difficile* izolasyon oranının önemli seviyede yükseldiği saptanmıştır (50). Sodyum taurokolatın da *C. difficile* sporlarının vegetatif forma daha kolay geçmesini sağladığı ve %0,2 oranında CCFA besiyerine eklenen sodyum taurokolatın, örneklerdeki az miktardaki *C. diffcilenin* tespit edilmesinde son derece faydalı olduğu saptanmıştır (48).

Konvansiyonel kültür metotlarına ilaveten *C. difficile* için kromojenik besiyerileri de yapılmıştır. Bu besiyeri renk değişimi yaparak *C. diffcilenin* tespit edilmesini kolaylaştırmaktadır. Kromojenik besiyeri, içinde bulunan özel kromojenik substratlar nedeniyle öteki besiyerlerinden daha maliyetlidir (50).

Kültürün duyarlılığı oldukça yüksektir. Fakat, metodun kompleks oluşu, toksijenik ve nontoksijenik suşları birbirinden ayıramaması gibi sebeplerle merkezi laboratuvarlarda uygulanmaktadır ve daha çok salgın dönemlerinde epidemiyolojik bakımdan önem kazanmaktadır (50).

Yalnız başına kültür pozitif olması, kolonizasyon ile enfeksiyonu ayıramamaktadır (50). Bu sebeple toksijenik kültürler kullanılmalıdır. Toksijenik kültürde, önce bakteri kültürde üretilir daha sonra EIA metoduyla ya da PCR ile toksininin varlığı araştırılır. Sonuç 4-7 gün içerisinde çıkmaktadır. Hücre kültürünün sitotoksitesi nötralizasyon metodundan daha yüksek duyarlılığa sahiptir. Bu sebeple altın standart tanı metodu olarak kabul görmektedir. Fakat, *C. difficile* suşlarının toksin üretme kabiliyetini in vitro gösterebildiğinden dolayı gerçekte dışkıda toksin bulunmasa da yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilmektedir. Semptomsuz taşıyıcı kişilerde de test sonucu pozitif olabilmektedir (54).

1.2.1.6.7. Enzim Temelli İmmünolojik Yöntemler (Enzim Immunoassay EIA)

Enzim esaslı immünolojik (EIA) metotlar ilk defa 1984 yılında *C. difficile* toksin A veya *C. difficile* toksin A ve B'yi saptamak amacıyla kullanılmıştır Hastalıktan sorumlu *C. difficile* toksinlerini belirleyen immünokromotografik/

lateral flow membran immunoassay, microwell ve solid faz testleri gibi çok miktarda ticari EIA testleri geliştirilmiştir (55).

Dışkıda *C. difficile* toksinlerinin tespit edilmesi hedefine yönelik olarak ilk zamanlar yalnızca toksin A'yı tespit eden kitler geliştirilmiş fakat günümüzde tavsiye edildiği gibi hem toksin A hem de toksin B'yi tespit edebilen pek çok ticari kit üretilerek toksin A (-) / toksin B (+) suşlarının da tespit edilmesi kolaylaştırılmıştır. Bu testlerin duyarlılık ve spesifiklikleri (%40-100) son derece değişkenlik göstermektedir (50).

Antibiyotiklerle bağlantılı ishalde duyarlılıkları oldukça düşük (%34) olup, antibiyotikle ilgili kolitte %70'leri aşan duyarlılık göstermektedirler. PMK vakalarında neredeyse sürekli pozitif sonuç alındığı belirtilmektedir. EIA ile 100-1000 pg düzeyinde toksin A veya B tespit edebilmektedir (46). Yanlış pozitif sonuçların fazla olması, yanlış negatif sonuçlar kadar sorunlar oluşturabilmektedir (50). EIA testlerinin kısa zamanda sonuç vermesi, daha rahat uygulanabilmesi, bununla birlikte düşük maliyetli olması sebebiyle klinik laboratuvarlarda alternatif bir metot olarak tavsiye edilmektedir (54). Bu metodun esasında, *C. difficile*ye karşı gelişmiş monoklonal ya da poliklonal antikorların tespit edilmesi bulunmaktadır (50).

Clostridium difficile toksinleri haricinde, toksin oluşturan ve oluşturmeyen *C. difficile* kökenlerinin ürettiği metabolik enzim olan glutamat dehidrogenazı (GDH) saptayan EIA testleri de bulunmaktadır. GDH, gluD geni vasıtasıyla kodlanan metabolik bir enzim türüdür. Bu antijen *C. difficile* kökenleri tarafından fazla sayıda oluşturulmaktadır. Toksin üreten ve üretmeyen kökenleri ayıramadığı için pozitif sonuç bulunduğunda toksin EIA testleri ya da moleküler testlerle doğrulanması gerektiği belirtilmektedir (50). Bu antijen *C. sordellii* ile çapraz reaksiyona sebep olabilmektedir. Laboratuvarların büyük kısmı ilk aşamasında GDH testi olan iki aşamalı algoritmaya başvurmaktadır. Bu algoritmada ilkin GDH testi yapılır, testin negatif çıkması durumunda ileri test yapılmamaktadır. Test pozitif çıkarsa hemen ardından toksin testinin yapılması gereklidir.

Birtakım EIA kitleri, GDH ve toksini beraber tespit edebilmektedir. Bu kombinasyon, oldukça hızlı olup moleküler metotlardan daha az maliyetlidir. GDH

testi pozitif, toksin testi negatif ise, ya hasta toksijenik olmayan bir *C. difficile* taşımakta ya da toksin testinin yalancı negatif sonuç verdiği düşünülmektedir. Her iki testin pozitif olması ve hastanın da semptomatik olmasıyla *CDE* tanısı konulmaktadır (56). Diğer bir algorithmada ise üç aşamalı kullanılmaktadır. Bu algorithmada, GDH testi pozitif ve toksini negatif olan örneklere nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) ya da toksijenik kültür uygulanmaktadır. NAAT ya da kültür pozitif çıkması durumunda toksijenik *C. difficile* olarak rapor edilmektedir (57).

1.2.1.6.8. Moleküler Tanı Yöntemleri

Clostridium difficile tanısında dışkı örneklerinde NAAT metotları, 1990 yılında uygulanmaya başlanmıştır (58). Bu metot klinik örneklerdeki az miktardaki *C. difficile* DNA'sının amplifikasyonu sonucunda tespit edilebilir duruma getirilmesi esasına dayanır. Günümüzde ise Real Time PCR sistemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistemler, *C. difficile* tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır. tcdB; tcdA; tcdB, cdtA, tcdC nt 117 deletion; tcdA, tcdB, cdt nt 117 delesyonu FDA (Food and Drug Administration) onayı almış moleküler testlerin amaçlarıdır. PCR testleri, 45-180 dakika içerisinde sonuç verebilmektedir. Duyarlılığı %100, spesifikliği ise %99 olarak saptanmıştır (52, 59).

Direkt dışkı örneği üzerinden çalışabilmesi en önemli avantajıdır. Ancak bu yöntemle dışkının transportunun gecikebilmesi gibi durumlar nedeniyle değişik inhibitörler salınmakta ve bu nedenle PCR ile sonuç elde edilemeyen durumlar da bulunmaktadır. *C. difficile* kökenlerinin PCR ile özgül toksin A, toksin B ve “binary toksin” primerleri ile toksin gen durumu tespit edilebilmekte ve bu kökenler arasında varyant kökenler bulunuyorsa bunlar saptanabilmektedir (50).

1.2.1.6.9. Kromatografik Yöntemler

Gaitadaki uçucu bileşikler; gaz likit kromatografisi (GLK), gaz kromatografisi ve kitle spektroskopisi kullanılarak incelenebilir. GLK ile dışkıdan *C. difficile* için spesifik kalıp tespit edilerek tanı konulabilmektedir (60).

Bu metodun sitotoksin ve kültür sonuçlarıyla %61 oranında uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Yöntemin oldukça maliyetli olmasına rağmen araştırmacılar

GLK'nın *C. difficile* için iyi bir tarama yöntemi olabileceğini belirtmişlerdir (39). Solid faz mikro ekstraksiyonla oluşturulan gaz bileşimi, gaz kromatografisi ve kitle spektroskopisi kullanılarak da analiz edilebilmektedir (60).

Uçucu gazların özgül kalıbı *C. difficile* bağlantılı ishal tanısı için destek sağlamaktadır. İndolsüz furan tipleri *C. difficile* için spesifiktir. Yöntemle daha seri sonuçlar alınabilmektedir. *Rotavirüs* ve öteki enterik virüslerin ve *Campylobacter spp.* nin tespiti için de uygundur fakat kromatografi-kitle spektroskopisine ihtiyaç duyulmaktadır (60).

1.2.1.6.10. Yardımcı Laboratuvar Testleri

Fekal laktoferrin, 2 yaşından küçük olan ve anne sütü ile beslenen çocukların gaitalarında rastlanabilen demir bağlayıcı bir protein türüdür (61). Bu protein nötrofil aktivasyonu ile salınmakta olup proteolize karşı dirençlidir. İntestinal bakteriler ile indirgenememektedir (62). Fekal laktoferrin seviyesi, *C. difficile* enfeksiyonunda yükselmektedir (63). Dahası birtakım araştırmaların bulgularına göre algoritmelerde birinci sırada yer alması gerekmektedir (62). Fekal kalprotektin, nötrofillerin sitoplazmalarında bulunan, kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Bağırsakların inflamatuvar hastalıklarında gaitada bu protein salgılanmamaktadır ve bakteriler ile indirgenememektedir. Araştırmalar, bu proteinin oda ısısında gaitada bir hafta kalabildiğini ispatlamıştır (64). Sonuç olarak bu iki protein, bağırsak inflamasyonlarında spesifik olmayan ölçüt olarak kullanılabilir. *CDE*'de de bu iki belirteç artmıştır (50).

1.2.1.6.11. Biyokimyasal Testler

Clostridium difficile alakalı ishalin seyrinde lökositöz görülebilmektedir (ortalama 15.000/mm³), dahası kimi zaman lökomoid reaksiyon da olabilmektedir. Bilhassa yaşlı ve immünsüpresif hastalarda ishal aşırı protein kaybına sebep olabilmektedir; sonuç olarak hipoalbuminemiye, kolesterol ve transferin eksikliğine sebep olabilir; bununla birlikte bu hastaların gaitasında alfa-1 antitripsinin oldukça yükek olduğu gözlemlenmiştir (48). Sekretuar ya da kanlı, mukuslu olup gaita makroskopik ve mikroskopik olarak irdelenebilmektedir.

Dışkıda mantıklı miktarda lökosit %40-50, laktoferrin pozitifliği %60-80 vakada tespit edilir; lökosit tespit edilmesinin spesifikliğı %92 seviyesindedir (65).

L-Proline Aminopeptidaz enzimi, *C. difficile* tespit edilmesinde kullanılan öteki biyokimyasal testtir. Bu enzim *C. difficile*de pozitifdir ve hızlı bir disk testi ile gösterilebilir. Disk testinde L-Proline-beta naftilamid ve p-dimetilaminocinnamaldehyd varlığına bakılmaktadır (66).

1.2.1.7. Tedavi

Clostridium difficile tedavisi hastalığın ciddiyetine göre ayarlanmalıdır. Asemptomatik taşıyıcılar için herhangi bir tedavi endike değildir. Hafif antibiyotikle ilişkili ishal vakalarında (ateş, belirgin karın ağrısı veya lökositoz olmadan), semptomların ortadan kaldırılması için gerekli olan tek şey antibiyotiklerin kesilmesi olabilir. Bu konservatif yaklaşım, normal kolonik mikrofloranın yeniden oluşturulmasına izin verir ve nüks riskini önemli ölçüde azaltır. Daha şiddetli ishal veya kolitli hastalar metronidazol veya vankomisin almalıdır. 10 gün süresince günde dört defa 250 mg olan metronidazol, artık hafif ila orta şiddette *C. difficile* ishali için tercih edilen tedavi olarak kabul görmektedir (19). Yanıt oranları % 95'in üzerindedir, 2-3 gün içinde ishalde iyileşme ve 7-10 gün içinde semptomlar tamamen düzelir (67). Oral metronidazol iyi emilir, ancak terapötik seviyeler dışkıyla safraya atılım ve iltihaplı kolon mukozası boyunca eksüdasyon yoluyla elde edilir (68). Yan etkiler bulantı, metalik bir tat ve alkol intoleransını içerir. 10 gün süresince günde dört defa 125 mg olan vankomisin, *C. difficile* ishali kontrolünde eşit derecede etkilidir (68). Oral vankomisin emilmez, bu da çok yüksek dışkı konsantrasyonlarına ve az sayıda sistemik yan etkiye neden olur. Vankomisin psödomembranöz koliti tedavi etmek için kullanılan ilk ajandı ve hala metronidazolden daha güçlü olduğu düşünülmektedir (69). Metronidazol, birinci basamak ilaç olarak önerilmektedir çünkü vankomisin pahalıdır ve oral vankomisinin yaygın kullanımı durumunda hastane kaynaklı dirençli bakterilerin ortaya çıkması da muhtemeldir. Oral vankomisin tedavisi artık sadece metronidazole karşı toleransı olmayan, metronidazole cevap vermeyen veya şiddetli psödomembranöz koliti olan hastalar için önerilmektedir (70).

1.2.1.7.1. Şiddetli veya Fulminan Kolit

Şiddetli veya fulminan kolit gelişen *C. difficile* ishali hastalar için tercih edilen ajan olarak oral vankomisin önerilmektedir. Bununla birlikte, son cerrahi veya şiddetli kolit nedeniyle ileuslu hastalarda, intravenöz olarak metronidazol (500 mg/6 saat) uygulanmalıdır, çünkü bu iltihaplı kolonun lümeninde terapötik metronidazol konsantrasyonlarına neden olacaktır (68). İntravenöz vankomisin *C. difficile* koliti için etkisizdir. Kritik hastalarda, intravenöz metronidazol, nazogastrik tüp veya lavman yoluyla verilen vankomisin ile desteklenebilir (70).

Agresif tıbbi tedaviye rağmen kötüleşen az sayıda hastada ve kolonik perforasyon şüphesi olan hastalarda cerrahi müdahale hayat kurtarıcı olabilir. Her ne kadar çeşitli cerrahi yaklaşımlar savunulsa da, genellikle morbidite ve mortaliteyi en aza indirmek için geçici ileostomili subtotal kolektomi yapılır. Cerrahide sıklıkla birden fazla kolon perforasyonu bulunur. Tek bir perforasyon varsa ve kolit lokalize ise, segmental rezeksiyon başarılı olabilir. Bu hastalığa cerrahi müdahalenin genellikle mortalitesi yüksektir (yaklaşık %35), bu da acil cerrahi sırasında hastaların kötü klinik durumunu yansıtır (38).

1.2.1.7.2. Tekrarlayan *C. Difficile* İshali

Hafif relapslar, sonraki relapslara karşı koruyan, normal bir kolonik bakteriyel mikrofloranın geri dönüşüne izin veren bir yaklaşım olan başka antibiyotik tedavisi olmadan yönetilebilir. Şiddetli veya kalıcı semptomları olan ilk nüksü olan hastalar için, olağan tedavi 10-14 günlük bir metronidazol veya vankomisin kürünü tekrarlamaktır. Antibiyotik direnci oluşmadığından, *C. difficile* ishali başlangıç dönemini tedavi etmek için kullanılan ajan tekrar kullanılabilir.

Çoklu relapslar için çeşitli tedavi programları önerilmiştir. Bir yaklaşım metronidazol veya vankomisin ile 4 haftalık tedavi vermektir. Bir anyon bağlayıcı reçine olan kolestiramin, *C. difficile* toksinlerini bağlar ve sık relapsları tedavi etmek için antibiyotiklerle birlikte kullanılabilir. Vankomisin dozundan 3 saat sonra kolestiramin verilmesi tavsiye edilmelidir, çünkü kolestiramin vankomisine ve toksine bağlanır (71).

1.2.2. *Campylobacter* *Jejuni*

1.2.2.1. Tarihçe

Campylobacter'ler ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında sığır ve koyunlarda düşük sebebi olarak tanınan küçük gram negatif bakterilerdir (72). Başlangıçta *Vibrio* olarak adlandırılan organizma insanlarda nadiren hastalık nedeni olarak rapor edilmiştir (73). 1973'te yeni bir cins olarak *Campylobacter* bulunmuştur (74). 1980'lere kadar *Campylobacter* enfeksiyonlarının insan sağlığı üzerindeki tam etkisi görülmeye başlamıştır ve dünya çapında halen akut diyare ve sistemik hastalığın önde gelen bir nedeni olduğu bilinmektedir (75).

Campylobacter türleri hayvanların, özellikle de kümes hayvanlarının gastrointestinal kanalında yaygın olarak görülür. Bu nedenle hayvanlardan insana bulaşma sık görülür. *Campylobacter* cinsi bakterilerle ilişkili ilk tespitler 1880'li yılların sonlarında yapılmıştır. Yirminci yüzyılın başlarında *Campylobacter*'lerin ishalin etkenlerinden bir tanesi olduğu bildirilmiştir. İlk defa 1886'da Theodor Escherich (75) tarafından "kolera infantum" sonucunda yaşamını yitiren bebeklerin kolonlarından spiral bakteri olarak tanımlanmıştır, ancak bakteri kültürde üretilmemiştir. Daha sonraki yıllarda gastrointestinal sistemde spiral biçiminde bakteriler tanımlanmış olsa da kültürlerinin yapılamamış olması, bu bakterilere duyulan alakanın azalmasına sebep olmuştur (75).

Mc Fadyean ve ark. (72) 1913'te koyunlarda *Vibrio* benzeri bir bakteri tespit ettiklerini bildirmiş olup, bu mikroorganizmayı *Vibrio* cinsi içerisinde değerlendirip "*Vibrio fetus*" olarak isimlendirmişlerdir. Jones ve ark. 1931'de bu bakteriyi sığırların jejunumundan izole etmiş ve bunu *Vibrio jejuni* olarak adlandırdıklarını bildirmişlerdir. Vincent ve ark. (75) 1947'de insanlarda abortus görülen bir kadının kanından izolasyonunu yapmıştır, 1963'te ise Sebald ve Veron (76) bu bakterilere *Campylobacter* adını vermiş ve gerçek *Vibrio*'lardan ayırmışlardır. Skirrow (76) 1977'de *Campylobacter* cinsi bakterilerin selektif kültür metodunu geliştirerek gaitadan rahatça izole edilmesini sağlamıştır. Sonraki yıllarda *Campylobacter fetus* (*C. fetus*), *Campylobacter coli* (*C. coli*), *C. jejuni* ve *Campylobacter sputorum* (*C. sputorum*) türleri *Campylobacter* cinsi içerisine

alınmış ve *Campylobacter* cins adı genel olarak bilim dünyasında kabul görmüştür. (75, 76).

1.2.2.2. Morfoloji

Campylobacter türleri çoğunlukla 0,3-0,5 µm çapında 1,5-5 µm uzunluğunda kıvrık, spiral, martı kanadı şeklinde, sporsuz ve gram negatif basillerdir. Eski kültürlerde ya da oksijenle fazla temas ettiklerinde yuvarlak veya kokoid forma dönüştükleri gözlemlenmiştir. Polar ya da kimi türlerde bipolar olan kamçılarıyla karanlık alan mikroskobunda tirbüşon şeklinde hızlı şekilde hareket eden bakterilerdir (*C. gracilis* hareketsiz). Bu bakteriler flagelleri aracılığıyla ani ve ileriye doğru hareket ettikleri için intestinal kolonizasyonda son derece önemli roller oynadığı belirtilmektedir.

Campylobacter suşları seri hareketli ve küçük boyutta olduklarından dolayı 0,45-0,65 µm por çapına sahip membran filtrelerden geçebilme niteliklerine sahiptirler (77). Organizmalar oldukça yavaş büyür. Dışkı örneklerinden tespiti için 72-96 saat gereklidir ve kandan tespiti daha da uzun sürebilir. En iyi 42°C'de büyürler. Çünkü çoğu *Campylobacter* türler sefalotine (diğer dışkı florasının çoğunun duyarlı olduğu bir maddeye) dirençlidir, dışkı örneklerinden izolasyon için olağan yöntem, sefalotin içeren bir ortamın kullanılmasıdır. Bazı *Campylobacter* türleri, özellikle jejuni olmayan *Campylobacter* türleri sefalotine duyarlı olduğundan, ilk kültürleri negatifse ve *Campylobacter* enfeksiyonu şüphesi yüksekse filtre yöntemi ve antibiyotik içermeyen ortam kullanılmalıdır. Bu yöntem, önce dışkıyı antibiyotik içermeyen bir ortama 0,45-0,65 µm'lik filtrelerle filtrelemeyi içerir; filtreler çoğu dışkı florasının geçişini engelleyecek, ancak *Campylobacter* türleri gibi daha küçük bakterilerin geçişine izin verecektir (78).

1.2.2.3. Patogenez

Campylobacter jejuni enfeksiyonunun patogenezi hem konakçıya özgü hem de patojene özgü etkenleri içermektedir. Konakçının sağlık durumu ve yaşı *C. jejuni*ye spesifik humoral bağışıklığı, enfeksiyon sonrasındaki klinik sonuçları değiştirebilmektedir. Gönüllülerin katıldığı bir çalışmada, *C. jejuni* enfeksiyonunun

konakçı tarafından neredeyse 800 organizma alındıktan sonra geliştiği bildirilmiştir (79).

İshal, ateş ve karın krampları ile karakterize olan *C. jejuni* enfeksiyonu, akut ve kendi kendine sınırlı bir gastrointestinal hastalık ile sonuçlanır. *Salmonella*, *Shigella* ve *Yersinia* türleri gibi diğer bakteriyel patojenler tarafından üretilen akut gastrointestinal enfeksiyonlardan klinik olarak *Campylobacter* enfeksiyonu ayırt edilemez. Diyaresi olan çoğu hastada gaita yumuşak kıvamlı ve sulu ya da çok kanlıdır (80).

Hastalığın patogenezi ile ilişkili, bakterinin hareketli olması, bağırsak epitel hücrelerine yapışabilmesi, konak hücrelerine invazyon gerçekleştirebilmesi ve sitotoksin üretiminin olması önemli virülans faktörleri şeklinde bildirilmiştir (81).

Bakteriyle ilişkili olarak değişik genler tespit edilmiştir. *flaA*, *cadF*, *dnaJ*, *racR*, *cj0588* genlerinin yapışma ve kolonizasyon, *virB11*, *ciaB*, *pIdA* genlerinin invazyon ve *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* genlerinin ise sitotoksin üretiminden görevli genler olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte *C. jejuni*de bulunan *wlaN* geni de Guillain-Barre sendromu ile ilişkilendirilmektedir (81).

Campylobacter enfeksiyonlarının bölgesel komplikasyonları gastrointestinal sistemden direkt dağılması sonucunda oluşmaktadır ve kolesistit, pankreatit, peritonit ve masif gastrointestinal hemoraji ile sonuçlanabilmektedir. *Campylobacter* enfeksiyonunun ekstraintestinal sonuçları son derece nadirdir ve menenjit, endokardit, septik artrit, osteomyelit ve neonatal sepsis oluşabilmektedir (80).

Gıda veya su alımıyla birlikte, *Campylobacter*'ler mide asidi bariyerini geçtikten sonra konağın bağırsağına invaze olur ve distal ileum ve kolonun epitelyumunu örten mukus tabakasını kolonize eder. Bakterilerin termal stres cevabı ile alakalı olan ısı şoku proteinleri hayati virülans faktörlerinden bir tanesidir. *Campylobacter*, polar kamçı ve sarmal olarak kıvrılma hareketlerini kullanır ve bağırsak hücrelerini örtme görevi gören mukus tabakasına invazyonu gerçekleştirir (11). İnvaziv bakteriyel patojenler çoğunlukla, bakterilerdeki biyokimyasal çapraz iletişim kanalıyla uyarıcı sinyalleri ile etkileşirler ve konakçı

iskeletin yeniden düzenlenmesini tetiklerler ve patojenin hücreleşmesine sebep olmaktadır (82).

Pek çok patojene spesifik virölans belirleyicileri *C. jejuni* enfeksiyonunun patogeneğinde rol oynamaktadır, fakat bunların tespit edilmiş bir etkisi bulunmamaktadır. Patojenitenin şüpheli belirleyicileri, bağırsak epitelyumunun bağlanması ve kolonizasyonu için gerekli olan kemotaksis, motilite ve flagellayı içerir. Bir defa kolonizasyon oluştuğunda, öteki olası virölans belirleyicileri demir temini, konakçı hücrelerin istila edilmesi, toksinin üretilmesi, iltihap ve aktif sekresyon ve serozal sıvı sızıntısı ile epitelyumda bozulma meydana gelmiş olur (79).

1.2.2.4. Epidemiyoloji

Campylobacter enfeksiyonları hem gelişmiş hem de gelişmemiş ülkelerde görülebilir. Gelişimini tamamlamış ülkelerde enfeksiyon prevalansı %1'in altında iken, gelişme gösteren ülkelerde bu oranın çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Amerika'da en fazla tespit edilen bakteriyel gastroenterit etkeni olduğu bildirilmiştir. *Campylobacter* enfeksiyonu gelişmiş ve gelişim göstermekte olan ülkelerde epidemiyolojik olarak çeşitlilik göstermektedir. Sıfır ile 5 yaş arasındaki çocuklarda yetişkin bireylere kıyasla daha çok görülmektedir. Yirmi ile 40 yaş aralığı en sık görülen ikinci yaş aralığıdır (83, 84). *Campylobacter* insanlarda, bilhassa 5 yaş altı çocukları ve gençleri etkileyen, tavuk etinin tüketilmesiyle alakalı gıda kökenli gastroenteritin önde gelen sebebidir (85, 86). *Campylobacter* enfeksiyonları, ilkbahar döneminde yüksek düzeylerde görülmektedir ancak yaz aylarında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Tropikal iklimde bulunan ülkelerde ise mevsimsel dağılım göstermektedir ve yağış oranıyla orantılı olarak değişmektedir (83, 85). *Campylobacter* bakteriyemisi, karaciğer hastalığı, hipogamaglobulinemi ve HIV'i de kapsayan, immün yetmezliği ya da altta yatan herhangi ağır bir hastalığı olan bireylerde seyrek olarak ortaya çıkan bir hastalık türüdür (87).

Campylobacter türü bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar zoonoz etkenlidir. Bu bakteriler kanatlı kümes hayvanları, sığır, koyun, keçi ve domuz gibi çiftlik hayvanlarının, kedi ve köpek gibi evcil hayvanlarının bağırsaklarında

kommensal veya patojen olarak bulunmaktadır. Fakat bütün bu hayvanlarda hastalık etkeni oluşturmaktadır. Bu hayvanlar dünyaya geldikten sonra *Campylobacter* ile kontamine olup vücutlarında kolonize olmuş bakteriyle hayatlarını sürdürürler ve çoğunlukla yaşamları süresince taşıyıcı olarak kalmaktadırlar ve böylelikle bu enfeksiyonların hayvandan hayvana, hayvandan insana ve insandan insana bulaşmasında rezervuar konak olarak rol oynamaktadırlar (84).

En yaygın görülen *Campylobacter* türleri, enteritis ile alakalı olan *C. jejuni*, *C. coli* ve en fazla sistemik kampilobakteriyoz etkeni olan tür *C. fetus*dur. Nadir olarak görülen diğer türler; *Campylobacter lari* (*C. lari*), *Campylobacter upsaliensis* (*C. upsaliensis*), *Campylobacter cinaedi* (*C. cinaedi*), *Campylobacter fennelliae* (*C. fennelliae*), *Campylobacter butzleri* (*C. butzleri*) ve *Campylobacter concisus* (*C. concisus*)'dur. *Campylobacter avium* (*C. avium*), *Campylobacter canadensis* (*C. canadensis*), *Campylobacter cuniculorum* (*C. cuniculorum*), *Campylobacter insulaenigrae* (*C. insulaenigrae*), *Campylobacter peloridis* (*C. peloridis*) ve *Campylobacter subantarcticus* (*C. subantarcticus*) gibi yeni türlerse hayvanlarda ve kimi zamanda insanlarda tespit edilmişlerdir (85).

Campylobacter concisus ilk defa gingivitis ve periodontitisli hastalardan izole edilmiştir ve ağız boşluğunda yer alan mikrofloranın bir üyesidir. *C. concisus* daha fazla sağlıklı oral kısımlarda bulunmaktadır. *Campylobacter curvus* (*C. curvus*) ve *Campylobacter ureolyticus* (*C. ureolyticus*) gibi öteki *Campylobacter* türlerinin de izolasyonu oral bölgelerden yapılmıştır. Bununla birlikte *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *Campylobacter gracilis* (*C. gracilis*) ve *Campylobacter showae* (*C. showae*) türleri de periodontal hastalık faktörleri olarak bilinmektedirler (86).

*C. jejuni*de rezervuar konak oldukça farklı ve fazla iken, *C. coli*de rezervuar konak domuz, *Campylobacter hyointestinalis* (*C. hyointestinalis*)'de ise köpektir (83).

1.2.2.5. Klinik

Campylobacter enfeksiyonlarının büyük kısmı tavuk etlerinden kaynaklanmaktadır. *Campylobacter* cinsi bakterilerin en yagın sebep oldukları

enfeksiyon gastroenterit enfeksiyonlarıdır. Bu bakterinin sebep olduğu gastroenteritler akut biçimde gelişmektedir. Enfeksiyonun süresi 1-5 gün arasında değişiklik göstermektedir. Bu bakterilerin sebep olduğu gastroenterit olguları genellikle semptomsuz gelişmektedir. Erken belirtiler arasında başlayan karın ağrısı ve ishal bulunur. Vakaların yaklaşık üçte birinde, karında sertlik, genel ağrılar, baş dönmesi ve deliryumun eşlik ettiği yükselmiş ateş ile karakterize prodromal bir evre gözlenmektedir. Gastrointestinal semptomların başlamasından önce bir gün (nadiren iki veya üç gün) sürebilir. Prodromal semptomlarla başvuran hastalar, diyare ile başvuranlardan daha ağır bir hastalık geçirme eğilimi göstermektedir (83).

Akut hastalık, kramp, periumblikal karın ağrısı ve ishal ile karakterizedir. Hastalar çoğunlukla günde on ya da daha fazla dışkılama yaptıklarını söylemektedir (88). Kanlı dışkı, hastaların yaklaşık %15'inde ishalin ikinci veya üçüncü gününde gözlenir; plazmid pVir içeren bir organizma ile enfeksiyon daha şiddetli invaziv hastalık ve daha yüksek oranda kanlı ishal olasılığı ile ilişkili olabilir (89). Karın ağrısı diyare olmadan da ortaya çıkabilir. Ağrı sürekli hale gelebilir ve akut apandisit taklit ederek sağ iliak fossaya yayılabilir. Bulantı yaygındır; hastaların yaklaşık %15 ile %25'i kusma bildirmektedir (90).

Geçici bakteriyemi, enfeksiyonun erken evrelerinde bulunabilir. ABD ve Avrupa'da, *Campylobacter* vakalarının %0,1 ile %1'inde bakteriyemi olduğu bildirilmiştir (91). Bakteriyemi immün sistemi baskılanmış veya diğer komorbiditesi olanlarda daha sık görülmektedir (92). Bakteriyemi ile hafif bir nötrofilik lökositoz yaygındır (93) ancak hafif, geçici lökopeni de bildirilmiştir (94).

İshal kendi kendini sınırlar ve ortalama yedi gün sürer. İshal giderildikten sonra karın ağrısı devam edebilir ve 5 kg ya da daha fazla kilo kaybı görülebilir. Organizmalar klinik iyileşmeden birkaç hafta sonra dışkılara atılabilir. Bir çalışmada ortalama 38 günlük atılım süresi bildirilmiştir (95).

HIV/AIDS hastalarında *Campylobacter* enfeksiyonu insidansında artış vardır. Tekrarlayan enterit ve bakteriyemi atakları ile ilişkili olabilen uzun süreli

taşıma meydana gelebilir. HIV enfeksiyonu olan hastalarda *Campylobacter* enfeksiyonu şiddetli hastalık ile ilişkilendirilmiştir (96).

Hastalığın komplikasyonlarını değerlendirdiğimizde;

Campylobacter enteritin akut komplikasyonları arasında;

- Kolesistit (97),
- Sürekli ayaktan periton diyalizi olan hastalarda, peritonit (98),
- Döküntü (ürtiker, eritema nodozum, vaskülit, selülit gibi) (99),
- Septik psödoanevrizma (100),
- Perikardit ve miyokardit bulunmaktadır (101).

Geç komplikasyonlar; *Campylobacter* enfeksiyonunun iki önemli geç başlangıçlı komplikasyonu vardır; reaktif artrit ve Guillain-Barré sendromu (GBS).

Reaktif artrit; *Campylobacter* enterit ile ilişkili reaktif artrit, *Salmonella*, *Shigella* ve diğer bakteriyel ishal enfeksiyonlarından sonra ortaya çıkan artrite benzer. Reaktif artrit oranı oldukça düşüktür (%2,6'ya kadar) (102). Ancak eklem semptomlarının prevalansı %9 ile %13 kadar yüksek olabilir (103). *C. jejuni* enfeksiyonunu takiben reaktif artrit gelişme olasılığı diyare hastalığının şiddeti ile ilişkili görünmemektedir. Reaktif artrit, HLA-B27 fenotipi olan hastalarda daha sık görülür (104).

Eklem ağrısı ve şişmesi genellikle ishalin başlamasından bir ile iki hafta (veya bazen birkaç hafta) sonra ortaya çıkar. Ayak bilekleri, dizler, bilekler ve ellerin küçük eklemleri en sık etkilenir. Artrit süresi en az bir hafta olup, birkaç ay kadar devam ettiği de belirtilmektedir. Prognoz genellikle iyidir; çoğu hasta, başladıktan sonraki altı ay içinde kendiliğinden veya NSAID tedavisi ile iyileşir (105).

Guillain-Barré Sendromu; *C. jejuni* enfeksiyonu, akut immün aracılı polinöropati olan GBS'nin tetikleyicisi olarak tespit edilmiştir (106). GBS olan kişilerin yaklaşık %30-40'ı, tipik olarak nörolojik semptomların başlamasından bir ya da iki hafta önce ortaya çıkan *Campylobacter* enfeksiyonu geçirdiği tahmin edilmektedir (106). *Campylobacter* ile ilişkili GBS; GBS'nin aksonal formu

(demiyeelinizan formun aksine) daha siktır. *C. jejuni* ile enfeksiyondan sonra ortaya çıkan GBS'nin diğler GBS formlarından daha kötü bir prognozu vardır; iyileşme daha yavaştır ve rezidüel nörolojik sakatlık olasılığı diğler GBS formlarından daha fazladır (107) .

Campylobacter jejuni enfeksiyonunu takiben iki ay boyunca GBS gelişme riski, genel popülasyonda GBS gelişme riskinden yaklaşık 100 kat daha yüksektir (108).

GBS nin kraniyal sinirlerin daha belirgin bir şekilde etkilendiğı Miller-Fisher varyantı da *Campylobacter* enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu vakalarda GQ1b ganglioside (kraniyal sinir miyelinde bulunan) çapraz reaksiyon gösteren antikorlar gözlenmiştir (109). *C. jejuni* ile ilişkili Miller-Fisher sendromunda en sık görülen serotip penner O2'dir (110).

1.2.2.6. Tanı

1.2.2.6.1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması

Örneklerin, akut evrede ve antibiyotik tedavisi yapılmadan önce alınması gerekmektedir. En az 4-5 gr (sulu ise 4-5 mL) taze gaita örneğı alınması gerekli olup, idrar ile kontamine olmamasına özen gösterilmelidir. Örnekler steril ya da temiz plastik, geniş ağızlı, vida kapaklı ve sızdırmaz kaplarda laboratuvara götürülmelidir. Dışkı örneğı bir saat içerisinde çalışılmayacaksa ya da laboratuvara ulaştırılmayacaksa bir eküvyon vasıtasıyla modifiye CaryBlair (agar oranı %0,16) ya da kömürlü Amies besiyeri benzeri bir taşıma besiyeri içinde ulaştırılmalıdır. *Campylobacter* izole etme oranını artırmak için mesela laboratuvara gönderilmesi gecikmiş ise hasta bireyden yeniden bir örneğın alınması gerekebilmektedir. İzole edilen *C. jejuni* izolatlarını muhafaza etmek için kullanılan metot genellikle %15 gliserol içeren besiyerleridir (111).

1.2.2.6.2. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örnekleri

Rektal sürüntü için aynı kişiden birden fazla sürüntü örneğı alınması önerilmektedir. Örnek alındıktan sonra laboratuvara gelmesi bir saati geçecek ise eküvyonlar (agar oranı 0,16) taşıma ortamına koyulmalıdır. Bununla birlikte özgül

ön zenginleştirici bir taşıma besiyeri de kullanılabilir. Dışkı ve rektal sürüntü örnekleri 48 saatten daha kısa bir süre bekletilecekse +4°C’de, 48 saatten fazla bekletilecekse -70°C’de muhafaza edilmelidir (112).

1.2.2.6.3. Kan Örnekleri

Aseptik şartlarda alınan venöz kan örnekleri devamlı monitörize kan kültür şişeleri içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır (112).

1.2.2.6.4. Mikroskopik İnceleme

Dışkı örneğinin iki saat içerisinde, karanlık alan mikroskobu ya da faz kontrast mikroskopunda irdelenmesi gerekmektedir. Bu irdelemede *Campylobacter* cinsi tirbuşon tarzındaki tipik hareketlerinin gözlenmesi bakterinin tanısına yardımcı olmaktadır. Direkt mikroskopi gaita örneğinde lökosit ve eritrosit bulunduğunun tespit edilmesi bakımından son derece önem taşımaktadır. Fakat gaitada lökosit görülmemesi *Campylobacter* enfeksiyonu olmaması anlamına gelmemektedir (113).

1.2.2.6.5. Kültür

Campylobacter türlerinin çoğalmaları için özel besiyerleri, uygun ısı ve mikraerofilik koşullar gerekli olduğundan Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları’nda izole edilmesi son derece zordur. Kültür için kullanılan Skirrow, Butzler ve Campy-BAP gibi antibiyotikli kanlı besiyerleri gerekmektedir. Ekim sonrasında plaklar %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂ bulunduran mikraerofilik gaz karışımı sağlayan ve ticari olarak satın alınabilen Campy Pak (BBL No: 271034) ya da Campy Gen (Oxoid 0025A) kullanılarak anaerobik kavanoz içerisinde 42°C’de inkübe edildikten sonra, 24-48 saat inkübasyon sonucunda 0,3-0,5 mm çapında su damlası benzeri nemli, gri/beyaz ve hemoliz oluşturmeyen tipik kolonileri gözlenmektedir (114).

1.2.2.6.6. İdentifikasyon

İdentifikasyonda sonra üreyen kolonilerden gram boyama yapılması ilk adımdır. Mikraerofilik şartlarda 42°C’de seçici besiyerinde üreyen kolonilerden oksidaz (+), katalaz (+) ve gram (-) kıvrık martı kanadı şeklinde çomakçıklar

Campylobacter türleri olarak kabul edilmektedir. Bu bakterilerin ortamda bulunan hidrojen peroksiti, oksijen ve suya dönüştürebilme kabiliyetine sahip olduğu belirtilmektedir. Sitokrom oksidaz aktivitesinin tespit edilmesinde ise, kullanılan oksidaz testinde p-fenilen diamin dihidroklorid gibi renksiz bir boya enzim için, yapay bir elektron alıcısı olarak boya okside edilmekte olup, koyu mor bir bileşik olan indofenol mavisi oluşturmaktadır (115).

Campylobacter jejuni türlerini öteki *Campylobacter* suşlarından ayırmak için hippurat hidroliz testi tercih edilmektedir. Bakterilerin hippuratu hidroliz edebilme kabiliyetlerini incelemek için sodyum hippuratın %5'lik solüsyonu kullanılmaktadır. *C. jejuni*de hippurikaz enzimi bulunduğu için sodyum hippuratu benzoik asit ve glisine ayrıştırabilme kabiliyetine sahip olduğu belirtilmektedir. Ortamda indikatör olarak ninhidrin ilavesi glisin ile verdiği reaksiyonun görülmesine dayanmaktadır. Fakat yapılan birtakım araştırmalarda hippurat testi negatif olan *C. jejuni* suşlarının varlığı da gözlemlenmiştir (116).

1.2.2.6.7. Serolojik Testler

Campylobacter jejuni ve *C. colin*in ortak yüzey antijenlerini direkt olarak gaita örneklerinde tespit eden farklı ticari ELISA ve lateks aglütinasyon esaslı testler bulunmaktadır. ELISA testinde *Campylobacter* cinsinin iki yüzey antijenine karşı geliştirilmiş poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Meritec-Campy testi kültürden izolasyonu yapılan kolonileri tespit edebilmek için uygulanan, lateks aglütinasyon testidir. *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* saptanmasında kullanılmaktadır. Bu testte latex partikülleriyle flagellar antijene karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılmaktadır. Campyslide testinde ise, *Campylobacter* türlerinin hücre duvar antijenlerine karşı üretilmiş anti-*Campylobacter* antikorları ile kaplı lateks partikülleri kullanılmaktadır. Bu test *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. fetus* türlerinin tanımlamasında kullanılmaktadır (117).

Campylobacter enteritine cevap olarak serumda immünglobülinlerden özellikle IgA ve IgM, belirtiler başlamasından hemen sonra artmaya başlar. Bu antikorlar ELISA ve aglütinasyon ile gösterilebilmektedir. Akut enfeksiyonun ardından hasta bireylerin immünglobulin seviyeleri ELISA ile incelendiğinde hastaların yalnızca %60'ında anlamlı bir yükseliş görüldüğü belirtilmiştir. Bununla

birlikte hastalarda akut enfeksiyondan sonra antikor düzeyleri eski seviyesine dönmemektedir ve hastaların %9'unda 20 ay geçmesine rağmen antikor titre yüksekliğinin sürdüğü saptanmıştır. Günümüzde serolojik metotlar hastalığın tespit edilmesinde daha çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır (117).

1.2.2.6.8. Moleküler Yöntemler

Campylobacter türlerini biyokimyasal ve serolojik olarak ayırt etmek son derece zordur ve uzun zaman gerekmektedir. Bu ayırım genellikle *C. jejuni*nin Na-hippuratı hidroliz etmesi temeline dayanmaktadır ki, bunun da daima doğru sonuçlar vermediği belirtilmektedir. Tür ayırımını kolaylaştırmak için son zamanlarda gaita örneklerinde *Campylobacter* DNA'sını tespit eden ve tür seviyesinde identifikasyon yapabilen in-house, multipleks ve real time özellikle PCR metotlar kullanılmaktadır. DNA esaslı araştırmalarda *ceuE*, 16S rRNA, 23S rRNA, *glyA*, *flagellin*, *lipidA*, *tuf*, *hipurikaz* ve *aspartokinaz* genleri gibi birçok gen çalışılmıştır. Bu metotlar kültür metoduyla gözden kaçırılabilen *Campylobacter* türlerinin tespit edilmesini sağlamaktadır (118).

1.2.2.7. Tedavi

Antibiyotik tedavisi yerine hidrasyon ve elektrolit dengesinin korunması *Campylobacter* enterit tedavisinin temelidir. *Campylobacter* enfeksiyonu olan hastaların çoğuna hiç antibiyotik gerekmez. Bununla birlikte, antibiyotiklerin kullanılması gereken spesifik klinik durumlar vardır. Bunlar arasında yüksek ateş, kanlı dışkı, uzun süreli hastalık (> 1 hafta süren semptomlar), hamilelik, HIV enfeksiyonu ve diğer bağışıklık sistemi baskılanmış durumlar bulunur. Amerika Birleşik Devletleri'nde kanlı ishalin en yaygın nedeni *Campylobacter* değil *E. coli* O157:H7 enfeksiyonudur. Son çalışmalarda çocuklara antibiyotik verilmesi ile *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna bağlı hemolitik üremik sendrom (HÜS) riskinin arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, kanlı ishalleri küçük çocuklar kesinlikle gerekli olmadıkça veya bu enfeksiyon dışlanana kadar antibiyotiklerle tedavi edilmemelidir (119).

Campylobacter enfeksiyonu için antimikrobiyal tedavi için florokinolonlar tercih edilir. *Campylobacter* enterit semptomları (ateş, karın krampları ve ishal) *Salmonella* veya *Shigella* türleri gibi diğer organizmaların neden olduğu bakteriyel

gastroenterit semptomlarından klinik olarak ayırt edilemez. Bu diğer patojenler de genellikle florokinolonlara duyarlı olduğundan, bu ilaçlarla ampirik tedavi dışkı kültürlerinin sonuçlarını beklemeden kullanılabilir. Bununla birlikte, son birkaç yılda, tüm dünyada hızla artan bir oranda *Campylobacter* suşunun florokinolona dirençli olduğu belirlenmiştir (120).

Eritromisin *Campylobacter* enfeksiyonlarının tedavisi için en uygun ilaç olarak kabul edilmektedir. *Campylobacter*'in eritromisine direnç oranı oldukça düşüktür. Eritromisinin diğer avantajları arasında düşük maliyeti, güvenliği, uygulama kolaylığı ve dar aktivite spektrumu bulunmaktadır. Florokinolonların ve tetrasiklinlerin aksine, eritromisin çocuklara ve hamile kadınlara güvenli bir biçimde uygulanabilir ve öteki dışkı florası üzerinde inhibitör bir etki göstermesi birçok ajandan daha az olasıdır. Yetişkinler için tavsiye edilen doz, 5 gün süresince günde 2 defa oral olarak 500 mg'dır. Çocuklar için tavsiye edilen doz 5 gün süresince 2 bölünmüş dozda günde kg başına 40 mg'dır (121).

Makrolidler, azitromisin ve klaritromisin de *C. jejuni* enfeksiyonlarına karşı etkilidir, ancak eritromisinden daha pahalıdır ve hiçbir klinik avantaj sağlamazlar. *Campylobacter* türleri ayrıca genellikle aminoglikozidler, kloramfenikol, klindamisin, nitrofuranlar ve imipeneme duyarlıdır. *C. jejuni* enfeksiyonların tedavisinde yüksek direnç oranlarından dolayı tetrasiklin, amoksisilin, ampisilin, metronidazol ve sefalosporinler tercih edilmez. Tüm *Campylobacter* türleri vankomisine, rifampin ve trimetoprima karşı doğal olarak dirençlidir (121).

1.2.3. Salmonella

1.2.3.1. Tarihçe

1855 yılında Theobald Smith (122) domuzlardan keşfetmiştir. 1925'te *Salmonella* cinsi sınıflandırılmaya başlamıştır. Loeffler (123) aracılığıyla 1892'de *Salmonella typhimurium* ve Schottimuller (123) tarafından 1899'da *Salmonella paratyphi* (*S. paratyphi*) keşfedilmiş ve *Salmonella* cinsine dahil edilmiştir. Daha sonra *Salmonella*'nın pek çok serovarı tespit edilmiştir. *Salmonella* genusunun sınıflandırılması yapılmış ve iki tür altında toplanmışlardır: *Salmonella enterica*

(*S. enterica*) ve *Salmonella bongori* (*S. bongori*). Bergey's Manual'de son sınıflandırmada yerini almıştır ve bu iki türün içine *Salmonella* serovarlarının bütünü girmektedir (123).

1.2.3.2. Morfoloji

Salmonella'lar, *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin yaygın niteliklerini göstermektedirler. Gram (-) basil görünümlü, fakültatif anaerob, katalaz (+), oksidaz (-), peritriş kamçıları aracılığıyla hareketli (*Salmonella pullorum* (*S. pullorum*) ve *Salmonella gallinarum* (*S. gallinarum*) hariç) glikoz, maltoz, ksiloz ve öteki karbonhidratları asit ve kimi zaman asitle beraber gaz oluşturup fermente eden, üç şekerli demirli besiyerinde (TSI) hidrojen sülfid (H₂S) oluşturan, indol (-), metil kırmızısı (+), Voges-Proskauer (-) olan ve sitrat bulunduran besiyerinde çoğalabilen bakteri türleridir (124).

Çoğalabilmeleri için besiyerinde kan, serum, glikoz gibi zenginleştirici maddelere ihtiyaç duymadan 1-2 gün içinde gözle görülebilir koloniler oluşturabilmektedirler. *Salmonella* bakterilerini gaitadan izole etmek için kullanılan ve öteki enterik bakteriler için de kullanılan, seçici-ayırt edici besiyerleri olan Mac Conkey agar ya da EMB agar kullanılabilmektedir. Bu besiyerlerine ilaveten, daha fazla seçici niteliği bulunan salmonella-shigella (SS) agar, hektoen enterik (HE) agar ya da ksiloz lizin deoksikolat (XLD) agarlar da kullanılmaktadır (125, 126).

Salmonella dünyada ve ülkemizde insan ve hayvanlar için kayda değer bakteriyel patojen etkenlerinden bir tanesidir. Besin kaynağı olarak tüketilen tavuk gibi kanatlı hayvanlar, *Salmonella* bakterisinin insanlara bulaşmasında en önemli rezervuar konaklarının başında gelmektedir. Tavuk etleriyle insanlarda gıda zehirlenmesine sebep olan en önemli *Salmonella* alt türleri; *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) ve *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*)'tir (127). *S. typhimurium*un çok kapsamlı bir konak aralığı bulunmaktadır. İnsanlarda çok ağır gastroenteritlerden sistemik enfeksiyonlara kadar değişik enfeksiyonlara ve hastalıklara sebep olabilmektedir (127).

İnsan bedeninde makrofajlara, dendritik ve epitel hücrelere yayılabilme kabiliyetlerine sahip olduğu bildirilmektedir. Birtakım *Salmonella* türleri konağa uyum sağlamıştır veya konağa spesifiktir. İnsanda, genellikle belirtilerin aniden ortaya çıktığı ve kısmen kısa zamanda son bulan gastroenteritler, tifo-paratifo benzeri enfeksiyonlar, taşıyıcılık hali, sepsis ve bakterinin bir ya da birden fazla alanda lokalize olabilmesi gibi değişik enfeksiyonlara sebep olduğu belirlenmiştir (128).

Salmonella’ların patogeneğinde etkili olan toksinleri;

1. Konağın barsak mukozasında hasara neden olan endotoksinler,
2. Barsaklarda ağır elektrolit kaybına neden olan enterotoksinler ve
3. Barsak epitelinde protein sentezini önleyen sitotoksinlerdir (128).

Salmonella’ların endotoksinleri hücre duvarlarında yer alan lipopolisakkarit (LPS)’in lipid A bölümüdür. *Salmonella*’ların enterotoksinleri *E. coli*’nin labil toksin (LT)’i ile benzer biçimdedir. Bu toksin, mukozadaki cAMP sayısını yükselterek adenilat siklazı aktive etmektedir ve barsak epitelinde fazlaca sıvı artışına sebep olur ve böylelikle insanlarda ve hayvanlarda elektrolit kaybının meydana gelmesine sebep olmaktadır (125, 128).

1.2.3.2.1. *Salmonella*’ların Sınıflandırılması ve İkili Adlandırılması

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan *Salmonella* cinsine dahil bakteriler, 1926’da White’in oluşturduğu ve 1972-1978’de Kaufmann’a göre hazırlanan LPS yapısındaki O somatik, protein yapısındaki H kirpik ve *Salmonella*’ya özgü kapsülömsü yapıdaki Vi antijenlerinin çeşitlilikleri baz alınarak alt türlerine ayrılmaktadırlar. 1980’li yıllarda bu bakteriler bir türe ve 7 alt türe (alt tür I, II, IIIa, IIIb, IV, V, VI şeklinde) ayrılmıştır ve bilimsel araştırmalar bu sınıflandırma baz alınarak yürütülmüştür. Günümüzde ise *Salmonella* cinsindeki bakteriler *Salmonella bongori* (*S. bongori*) ve *Salmonella enterica* (*S. enterica*) olarak iki tür şeklinde sınıflandırılmıştır. Bu iki türde 2500’den fazla serovar mevcuttur.

S. enterica türü ise 6 alt tür altında toplanmıştır. Bu 6 alt tür; *enterica*, *salamoe*, *arizonae*, *diarizonae*, *hautende* ve *indica* alt türleri olarak bilinmektedir. İnsanda hastalıklara sebep olan bütün serovarlar *S. enterica* spp. *enterica* içinde yer

almaktadır. *S. bongori* türü ve *S. entericanın* öteki alt türleri soğukkanlı hayvanlar, sürüngenlerde de görülen türlerdir (125, 128).

1.2.3.2.2. Biyokimyasal Yapısı

Mezofilik özelliklere sahip bakteri türlerinden *Salmonella*'ların, en uygun üreme ısısı 35-37°C'dir. Lizin ve ornitin dekarboksilasyonu (+) (ya da lizin ve ornitine etki pozitif), oksidaz (-), katalaz (+) olup, laktoz, sukroz ve üreyi metabolize edememektedirler. Bazı atipik *Salmonella* biyotiplerinin, lizini dekarboksile edemedikleri halde, laktoz, sukroz ve üreyi kullanabildikleri gösterilmiştir. Glikoz, mannitol ve maltozu fermente edip asit ve gaz oluşturmaktadırlar. Laktoz ve sakkarozu fermente edebilme özelliğinden yoksun olan *Salmonella* etkenleri sitratı karbon kaynağı olarak kullanmaktadırlar. Nitratı nitrite indirgeyen, H₂S (+), indol ve üreaz (-) mikroorganizma türleridir (129).

1.2.3.2.3. Antijenik Yapıları

Somatik (O) Antijeni; *Salmonella* türlerinin hepsinde mevcut olan yapı, polisakkarit niteliğinde olup, hücre duvarında protein ve lipidlerle bağlı şekilde bulunmaktadır. Endotoksin niteliği bulunan ve toksik şoklara sebep olan bakteri türüdür. Bu antijen alkole, aside ve ısıya dirençli olup, formole duyarlıdır. Bu antijene karşı gelişen antikorlar IgM yapısındadır. Bu antijenler kendilerine karşı hazırlanmış olan anti-O antiserumlarıyla lam veya tüp aglütinasyon (Gruber-Widal) deneyi yapılarak saptanabilmektedir (125).

Kirpik (H) Antijeni; Bu antijenler protein yapıya sahiplerdir. Sıcağa, alkole, aside ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı duyarlı olup, bu maddelere maruz bırakıldığında yapıları hemen bozulmaktadır. Bu antijenler formole dirençlidirler. *Salmonella* alt türleri hücre yüzeylerinde iki değişik antijen yapısında olan kirpik oluşturmaktadırlar. Bu antijene karşı gelişen antikorlar IgG yapısındadır (125).

Vi Antijeni (Yüzey Antijeni); Bu antijenin somatik (O) antijeninin en dış kısmında yer aldığı ve glikolipid yapısında bir yüzey antijeni olduğu belirtilmektedir. *Salmonella*'ların tamamında bulunmamaktadır. Vi antijeni bulunan *Salmonella* türleri, anti-O antikorlarıyla çökelti oluşmasını önlemektedir.

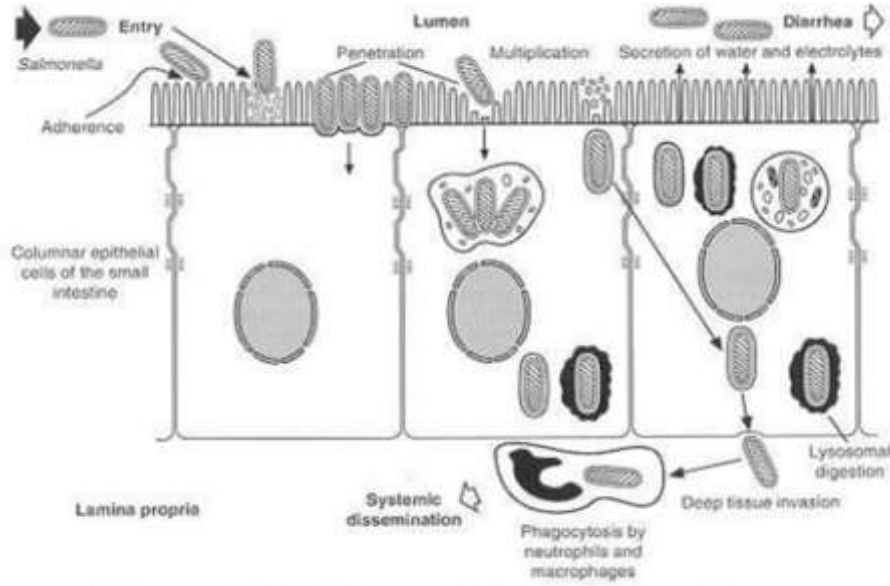
Yüksek ısılarda bir saat boyunca ısıtıldığında bakterilerden ayrılıp etkinliğini kaybettiği belirtilmektedir (125).

1.2.3.3. Patogenezi

Sadece insanlarda hastalık oluşturabilen *Salmonella* etkeni *S. typhi*, insanlar ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen *Salmonella* etkeni ise *S. typhimurium*dur. *Salmonella* bakterilerinin değişik etkilere sahip (yüzey antijeni, dokuya invazivliği sağlayan etkenler, endotoksinler, sitotoksinler ve enterotoksinler gibi) virülans faktörleri bulunmaktadır (125, 130).

Salmonella'lar bağırsak epiteline tutunup çoğalmaktadırlar. Tifo basilleri ince barsağa vardktan sonra safranın da desteğiyle çoğalır ve mukus engelini aşarak enterositlere ulaşmaktadırlar. İnce barsakta peyer plakları sırasında, yüzeyde yer alan ve özelleşmiş olan epitel hücreleri olan M hücrelerine yapışırlar. Burada bakteri kendini endositoza indükler ve normal durumlarda fagositoz gerçekleştirmeyen intestinal epitel hücrelerini uyarak M hücreleri ve enterositlerin içerisine girmektedir. Böylece karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi retiküloendotelial sistem (RES) organları makrofajlarına tutunup çoğalırlar. *Salmonella*'nın bağırsak epitelinde vücuda girerek oluşturduğu patolojinin şematik gösterimi şekli 2'de verilmiştir. Bakterinin bu biçimde hücre içerisinde çoğalıp miktarını arttırmasıyla inflamasyon, barsak yüzeyinde ülserler, sıvı emiliminde hasarlar, epitel hücrelerde hasarlar meydana gelir ve gaitada kan ve mukus gözlenir (125, 130).

RES'de çoğalan bakteriler, 1-2 hafta içerisinde ikinci bir bakteriyemi ile bütün doku ve organlara taşınırlar. Klinik semptomlar birinci haftadan sonra görülmeye başlamaktadır. Tifo, paratifo ve sepsis meydana gelen bireylerde hem hücresel hem de humoral bağışıklık cevabı oluşmaktadır. Antikor ise hastalığın ikinci haftasıyla beraber oluşmaya başlamaktadır. Bilhassa aynı *Salmonella* alt türü ile ikinci defa bulaş olduğunda birey tekrardan hastalığa yakalanmamaktadır (125, 130). *Salmonella* suşları; gastroenterit, tifo, bakteriyemi, fokal enfeksiyonlar ve hayat boyu taşıyıcılık gibi kapsamlı bir hastalık yelpazesine sahip suşlardır (131).



Şekil 2. Salmonella bakterisinin barsak lümenine penetrasyonu (125)

1.2.3.4. Epidemiyoloji

Kendi kendini sınırlayabilen hastalığa neden olan NTS (tifoidal olmayan *salmonella*) enfeksiyonları, en yaygın *Salmonella* enfeksiyonlarıdır ve dünya çapında görülür. Aksine, tifo *Salmonella*'nın neden olduğu enterik ateş, yüksek morbidite ve mortalite oranı ile ilişkilidir ve ağırlıklı olarak az gelişmiş ülkelerde görülür (132).

2000 yılında enterik ateş insidansının yaklaşık 22 milyon olduğu ve dünya genelinde, özellikle az gelişmiş ülkelerde 200.000 ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Enterik ateş insidansı ve mortalite oranı bölgeden bölgeye değişir, ancak antibiyotik tedavisine rağmen mortalite oranı %7'ye kadar çıkabilir (133).

Enterik ateş, Afrika ve Asya kıtalarının birçok bölgesinde ve ayrıca Avrupa, Güney ve Orta Amerika ve Orta Doğu gibi ülkelerde endemiktir. ABD ve bazı Avrupa ülkelerinde enterik ateş insidansı düşüktür ve toplam *Salmonella* vakası sayısı yılda 100.000'de 10'dan azdır. Bu ülkelerde bildirilen vakaların çoğu seyahatle ilgilidir, hastalık yabancılar veya Afrika, Hindistan veya Pakistan'dan dönen gezginler tarafından bulaştırılmaktadır (134).

Çin, Hindistan, Vietnam, Pakistan ve Endonezya dahil olmak üzere birçok Asya ülkesinde, yılda 100.000 nüfus başına 100 vakayı aşan yüksek enterik ateş oranları vardır. Diğer Asya ülkeleri ile karşılaştırıldığında, Pakistan ve Hindistan en yüksek insidans oranlarına, 100.000 kişi başına sırasıyla 451,7 vaka ve 214,2 vakaya sahiptir. Dünyada bildirilen enterik ateş insidansı aslında bir tahmindir çünkü enterik ateş araştırmaları genellikle büyük salgınlarda yapılırken, izole vakalar genellikle az bildirilir. Gelişmekte olan birçok ülkede, özellikle Sahra altı Afrika'da, sınırlı teşhis kaynakları ve uygun gözetim araçları, enterik ateş yükünün zayıf karakterizasyonu ile sonuçlanmaktadır (135).

Endemik bölgelerde, enterik ateş bebeklerde, okul öncesi ve okul dönemindeki çocuklarda daha yaygın görülür. Son birkaç yıldır yapılan epidemiyolojik çalışmalar, 5 yaşın altındaki çocuklar arasında yıllık enterik ateş insidansının Çin ve Vietnam'daki 100.000 nüfus başına yaklaşık 25 olduğunu ve Hindistan ve Pakistan'daki insidansın 100.000'de yılda 450'ye ulaştığını göstermektedir (136).

Gastroenterit, dünyada en yaygın *Salmonella* enfeksiyonudur ve yılda 155.000 ölümle sonuçlanan 93,8 milyon vakayı oluşturmaktadır (137). SalmSurv tarafından sağlanan 2001-2005 verilerine dayanarak, dünya çapında NTS enfeksiyonlarından sorumlu en yaygın serotip *S. enteritidis* (%65)'tir. Bunu, *S. typhimurium* %12 ile takip eder (138).

İnvaziv NTS az gelişmiş ülkelerde, özellikle Sahra altı Afrika'da endemiktir, 3 yaşın altındaki çocuklarda ve HIV ile enfekte hastalarda %25'e kadar bir ölüm oranı vermektedir (139).

FoodNet tarafından sağlanan verilere göre, ABD'de NTS enfeksiyonları yaygın olarak rapor edilmiştir. Yılda 100.000 nüfus başına 17,6 vaka olarak görülür. Tüm gıda kaynaklı patojenler arasında mortalite oranı en yüksek (%39) patojen olduğu da gösterilmiştir (140). *Salmonella* salgınları gıda ürünleri, uygun olmayan depolama ve ham malzemelerle doğrudan temas nedeni ile olur. Çoğunlukla salgınlarla ilişkili olan gıda ürünleri arasında süt, kümes hayvanları ve yumurta gibi hayvansal ürünler ile çikolata ve yer fıstığı ezmesi gibi gıda ürünleri bulunur (141).

1.2.3.5. Klinik

1.2.3.5.1. Enterik Ateş (Tifo)

A, B ve C paratifoid ateşinin klinik belirtilerini tifo ateşinden ayırmak mümkün olmadığından, “enterik ateş” terimi her iki ateş için de toplu şekilde kullanılmaktadır ve hem *S. typhi* hem de *S. paratyphi* tifo *Salmonella* şeklinde adlandırılmaktadır. İsimlerinin tıbbi mikrobiyologlarca kafa karışıklığına sebep olma olasılığı bulunmaktadır. Serovar *paratyphi B* şimdi serovar *schottmuelleri* olarak isimlendirilirken, serovar *paratyphi C* bir dönem serovar *hirschfeldii* olarak isimlendirilmiştir. Enterobakteriyologlar, *schottmuelleri* ve *hirschfeldii* serovar isimlerinin sırasıyla serovar *paratyphi B* ve *paratyphi C* için kullanılmasını teşvik ederlerse karışıklığın kısmen engellenmesi mümkün olacaktır (142).

İnsanlar iki tip tifo *Salmonella* için tek rezervuardır. Kontamine olmuş suların besin olarak alınması yoluyla organizmalar insanlara bulaşmaktadır. Enterik ateş, baş ağrısı, karın ağrısı ve ishal (veya kabızlık) gibi ateşli belirtilerle beraber bir hafta ya da bir haftadan fazla bir inkübasyon periyodu ile karakterizedir. Diyare çocuklarda daha yaygın görülürken, immünsüpresyonu olan hasta bireylerde konstipasyonun meydana gelmesinin daha olası olduğu belirtilmektedir. Hastalık esnasında düşük dereceli ateş ile (>37,5°C ile 38,2°C) başlarken enterik ateş, ikinci haftada ise yüksek dereceli ateşe (>38,2°C ile 41,5°C) kadar artan özgül bir ateş paterni göstermektedir. Enfekte hasta bireylerde ateşin yanında, miyalji, bradikardi, hepatomegali, splenomegali görülebilir ve göğüslerinde ve karnında gül lekeleri (rozeoller) adı verilen deri döküntüleri görülebilmektedir (143).

1.2.3.5.2. Akut Gastroenterit

En sık *Salmonella* enfeksiyonu akut gastroenterittir. Inkübasyon dönemi, kontamine olmuş yiyecekler ya da suların içilmesinden sonra 4 ile 72 saat arasında değişebilmektedir. Ateş başlaması, titreme, bulantı, kusma, abdominal kramp ve ishal akut gastroenteritin belirtileri arasında yer almaktadır. Ateş var ise çoğunlukla 72 saatte düşmektedir. İshal çoğunlukla, 3-7 gün içerisinde kendini sınırlamaktadır ve kimi zaman bu ishal kanlı olabilmektedir (144).

Salmonella ortalama 5 hafta süren enfeksiyondan sonra dışkı yoluyla atılmaktadır. Küçük çocuklarda ise atılım evresi daha uzun olabilmektedir. Seyrek olarak enfeksiyondan 8 hafta sonra süren *Salmonella* atılımı daha büyük çocuklarda ve yetişkin bireylerde görülebilmektedir (144).

1.2.3.5.3. Bakteriyemi

Enfekte bireylerin %5-10'unda bakteriyemi görülmektedir. Bir kısmında menenjit, kemik ve eklem enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Uzun süren ya da tekrar eden *Salmonella* enfeksiyonu immün sistemi baskılanmış kişilerde, bilhassa de hücrel bağışıklığı düşmüş kişilerde görülebilmektedir. Yetişkin kişilerde bakteriyemi daha da ağır seyretmektedir. Bu, hem organizmanın dayanıklı olmasını hem de bakteriyemi oluşan bireylerin komorbiditelerini yansıtmaktadır. Bu bakteriyemik hasta kişiler, hem açık hem de subklinik bağırsak enfeksiyonu olan pek çok sayıdaki kişinin küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Pek çok gelişimini tamamlamış ve gelişim gösteren ülkede *Salmonella* ile alakalı kan dolaşımı ya da fokal enfeksiyon nadir gözükme de, organizmalar, bilhassa az gelişmiş kimi ülkelerde, bilhassa duyarlı olan çocuklarda ve HIV ile enfekte yetişkin bireylerde, kan dolaşımı enfeksiyonuna sebep olan en sık bakteriler arasında yer almaktadır (145).

1.2.3.5.4. Kronik Taşıyıcılık

*S. typhi*nin akut enfeksiyon ya da akut hastalığın başlamasından 12 ay sonra gaitada pozitif kültür olarak tespit edilmesi, *S. typhi* taşıyıcılığı açısından ciddi bir halk sağlığı problemidir. *S. typhi* taşıyıcıları, yıllarca taşıyıcılığını devam ettirip başkalarını enfekte edebilmekte, endemik bölgelerde ve pandemilerde enfeksiyonlarından sorumlu tutulmaktadır (146).

Gıda ürünleri ya da su kaynakları ile kronik taşıyıcının gaitası kontamine olduğunda *S. typhi* bulaşı ortaya çıkar. *S. typhi*nin rezervuarı insanlar olduğu için bulaşın ortadan kaldırılabilmesi ve hastalıkların engellenebilmesi için kronik taşıyıcıları araştırıp bulmak ve taşıyıcılık halini ortadan kaldırmak gereklidir (146).

1.2.3.6. Tanı

Bu tür enfeksiyonların tanısının konulabilmesi için hastalığa uygun biçimde uygun bölgelerden örneklerin alınması gereklidir. Tifo ve paratifo tanısı için örnekler; kan, kemik iliği, safra ve dışkıdır. Hastalığın ilk haftasında kan ve kemik iliği, ikinci haftasında dışkı veya idrar, üç ve dördüncü haftasında safra örneğinin alınması gereklidir. Alınan örnekler vakit kaybedilmeden irdelenmelidir. Bilhassa gaitanın sıcaklıkla beraber beklemesine bağlı olarak normal flora elemanlarının sayısında artış meydana geleceğinden dolayı *Salmonella* bakterisinin üremesini sınırlandıracaktır. Eğer dışkı kısa süre içerisinde ve uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılmayacaksa Cary-Blair besiyerine konulup bekletilmelidir (125, 130).

1.2.3.6.1. Kültür

Kan kültürünün alınması gerekli ise, hastanın ateşinin yüksek olduğu dönemde alınması gereklidir. Yetişkin hasta kişiden aseptik şartlarda 8-10 mL civarında venöz kan alınmalıdır (125, 147). Dışkı örneği ilk başta zenginleştirici bir besiyerine konulmalıdır (SS agar, Selenit F agar, Tetrasyonatlı buyyon gibi). Bu sıvı besiyerlerinin içerisinde safra tuzları bulunmaktadır ve safra tuzları enterik bakterilerin çoğalmasını önler, patojen olan bakterilerin ise çoğalmaya olanak sağlamaktadır. Nohut büyüklüğünde dışkı alınıp bu besiyerlerine konulmalı, 4-6 saat kadar etüvde bekletildikten sonra buradan seçici besiyerine ekim yapılmalıdır (mac conkey agar, EMB agar, deoksikolat sitrat agar, XLD agar, hektoen agar gibi) (125, 147).

1.2.3.6.2. Serolojik Testler

Gruber-Widal testi *Salmonella* tespiti için kullanılan serolojik testtir ve bakterinin antijenlerinden olan H ve O antijenlerine göre oluşan antikor yanıtını araştırmaktadır. O antijenlerine karşı oluşan antikorlar IgM yapısındadırlar ve bu antikorlar akut enfeksiyonu göstermektedirler. H antijenlerine karşı oluşan antikorlar IgG yapısındadırlar ve bu antikorlar geçirilmiş enfeksiyonu göstermektedirler. Hastalığın tamamen nitelendirilebilmesi için bu antikor oranlarının 1/200 ve üzeri olması gerekmektedir (125, 147).

1.2.3.6.3. Moleküler Yöntemler

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile yapılan identifikasyon yöntemi ile de dışkıdan *Salmonella* izolasyonu başarılı sonuçlar vermiştir (148).

Real-Time PCR; PCR tekniği 1980’de Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından keşfedilmiştir ve 1993 yılında Nobel ödülü almıştır. PCR’ın keşfedilmesinden sonra, PCR yöntemi bazı modifikasyonlara uğratılmış ve Nested PCR, RT PCR, Real-Time PCR gibi 14 fazla kullanışlı PCR metodu elde edilmiştir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) tekniği nükleik asitlerin in-vitro şekilde (canlı organizma dışında) uygun koşullarda çoğaltılmasına dayanmaktadır (149). Son zamanlarda PCR reaksiyonlarında ısı döngüleri sağlayabilmek için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi, real-time PCR olarak isimlendirilen yeni bir metodun gelişmesine sebep olmuştur. 1992 yılında Higuchi ve arkadaşlarınca geliştirilen real-time PCR (Polymerase Chain Reaction) termal cycler cihazından alınan bilgilerin bilgisayara aktarılması ile PCR ürünlerinin gerçek zamanlı saptanmasına olanak sağlamaktadır. Bu sayede doğru teşhis süresi kısalmış ve sistemin güvenliği ve tekrarlanabilirliği artmıştır (150).

Real-time PCR’da her döngüde yalnızca bir izleme yapılmaktadır. Sıcaklık değişmeye devam ederken floresans izlendiğinde, erime eğrileri hangi ürünlerin amplifiye edildiğini ortaya çıkarır ve tek bir baza kadar dizilim değişimlerini saptayabilmektedir. Real-Time PCR ile PCR ürünlerinin floresan probalar desteğiyle ile gerçek zamanlı görüntülenmesi sağlanmıştır. Real-time PCR’da oluşan ürün sayısı reaksiyon süresince ortaya çıkan ürün sayısı ile orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği sinyalin izlenmesiyle belirlenmektedir (151).

1.2.3.6.4. Mikroskopik İnceleme

Mikroskopik inceleme için temiz bir lamin üstüne 1 damla serum fizyolojik damlatılarak, gaitanın bilhassa kanlı ve mukuslu olan kısmından öze ile alınıp lama konulur ve üzerine lamel kapatılır. Preparat 10x40 büyütülerek objektifle incelenmektedir. Preparatta bol sayıda lökosit, eritrosit ve epitel hücresi gözlenmesi

anlamlıdır. Fakat kesin tanı metodu değildir. Boyalı preparatta gözlenecek bakterilerin de tanı için bir değeri bulunmamaktadır (152).

1.2.3.7. Tedavi

Salmonella gastroenterit enfeksiyonlarında tek tedavi sıvı ve elektrolit kaybının tekrardan kazandırılmasıdır. Antibiyotik tedavisi yetersiz gelmektedir. Antibiyotik verilmesi hastalığı tedavi etmemektedir, tersine hastalığın taşıyıcılığını uzatarak ilaca dirençli suşların artmasında etkili olmaktadır. Sistemik tedavide trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX), kinolonlar ve 3. kuşak sefalosporinler kullanılmaktadır. Safra kesesi taşıyıcılığında tedavi ise yüksek doz ve uzun süreli olmak üzere antibiyotik kullanımı ya da safra kesesinin alınması olduğu belirtilmektedir. İmmüniteyi zayıflatan AIDS, kanser gibi hastalıklarda, orak hücre anemisinde ve yaşlılık gibi etkenlerde de antibiyotik kullanımı tavsiye edilmektedir (125, 147).

Aşı, *Salmonella* enfeksiyonlarında hastalıkları engellemek için kullanılabilecek etkili bir metottur. Atenüe (zayıflatılmış canlı) aşılar, hem antikor hem de hücre aracılı immün tepkilerin aktivasyonuna tesir ederek koruyucu bağışıklık sağlamaktadır (153).

1.2.4. Shigella

1.2.4.1. Tarihçe

Japon bilim insanı Shiga (154) tarafından bulunan *Shigella*, cins olarak 1950'li yıllarda kabul edilmiştir. 1896 yılında Kiyoshi Shiga (154) tarafından ilk *Shigella* türü olan *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) tip 1 bulunmuştur. 19. yüzyılın sonlarında Japonya'da periyodik olarak ortaya çıkan on binlerce ölümcül hastayı etkisi altına alan dizanteri salgınları, bilhassa 1897 Sekiri pandemisi, %20'lik bir ölüm oranıyla 91.000 insanı etkilemiştir. Bunun üzerine Shiga, Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü'nde 36 dizanteri hastası üstünde çalışma yapmıştır ve gaita numunelerinde gram (-), dekstrozu fermente edebilen bir basilin izolasyonunu yapmıştır. Organizmanın bazı alt türlerinin köpeklerde ishale sebep olduğu saptanmıştır. Shiga, ilk başta *Bacillus dizanteri* olarak isimlendirmiş,

bilhassa organizmanın toksik etkilere yol açtığını ortaya koymuştur. Shiga'nın dizanteri *Bacillus*'u keşfettikten sonra öteki bilim insanları tarafından benzer organizmalar keşfedilmiş ve *Shigella* cinsine *S. dysenteriae*, *Shigella flexneri* (*S. flexneri*) olarak ilaveler yapılarak taksonomik olarak yerleştirilme gerçekleştirilmiştir. Daha sonra adlandırmada birkaç revizyon yapılmıştır. Bergey'in Determinatif Bakteriyoloji El Kitabı'nın 1930 baskısında, bu cinse, ilk olarak *Shigella* ismi verilmiştir (154).

1.2.4.2. Morfolojik Özellikleri ve Sınıflandırılması

Shigella spp. *Enterobacteriaceae* familyasına ait gram (-), hareketsiz, çubuk şeklinde bakterilerdir. Bakteriler, insan veya primat konakçılara yüksek özgülük gösteren fakültatif hücre içi patojenlerdir. *Shigella* olarak adlandırılan basiller dizanteriye sebep olan bakterilerin izole edilmesi ve karakterizasyonu ile ilgili ilk rapor, 19. yüzyılın sonunda Kiyoshi Shiga tarafından yayınlanmıştır (154). *Shigella* cinsi biyokimyasal, serolojik ve klinik fenotiplere göre tanımlanmıştır (155). *Shigella* cinsi dört çeşittir. Bunlar; *S. dysenteriae* (serogrup A), *S. flexneri* (serogrup B), *Shigella boydii* (*S. boydii*) (serogrup C) ve *Shigella sonnei* (*S. sonnei*) (serogrup D)'dir. O antijenlerindeki varyasyonlara göre, türler ayrıca birkaç serotipe ayrılır. *S. flexneri* ve daha az olarak da *S. sonnei* endemiktir ve tüm enfeksiyonların çoğuna neden olur (156). *S. dysenteriae* ölümcül şigelloz vakalarının çoğuna neden olan salgınları ve en şiddetli dizanteri formunu açıklar. *Shigella* suşları arasındaki filogenetik ilişkilerin yeniden tanımlanmasına ek olarak, karşılaştırmalı genomik yapılar *Shigella* virülansının genetik temeli hakkında fikir verir. *Shigella* türlerinin fenotiplerini oluşturan genetik bilgi bakteriyel kromozomu ve büyük bir virülans plazmidi üzerinde kodlanır. Virülans plazmidi, tüm *Shigella* türlerinin temel virülans belirleyicisidir ve doku invazyonu ve hücre içi yaşam tarzı için gerekli moleküler yapıları kodlar (157). Bu yapının ana unsuru bir T3SS (Tip 3 Sekresyon Sistemi)'dir. T3SS, bakterilerin yaklaşık 25 proteinin bir kümesini bakteriyel sitoplazmadan doğrudan ökaryotik konakçı hücreye geçirmesini sağlar; bu "efektör" proteinler çeşitli konakçı hücre işlemlerine etki eder (158).

Virülans plazmidlerinin tam dizileri ve dört türün tümünü içeren birkaç *Shigella* suşunun kromozomları şu anda mevcuttur (159). *Shigella* türleri,

tanımlanmış serogrup ve serotipleri ile beraber tablo 1’de gösterilmiştir. Ayrıca, *Shigella*'nın tüm serotiplerini temsil eden bir suş toplama genomları, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon ile karakterize edilmiştir (160). Bu geniş miktarda genetik bilgi, patojenik olmayan *E. coliden* patojenik *Shigella*'nın evrimine yol açan ardışık genetik olayların tanımlanmasını sağlar ve farklı *Shigella* suşlarının virülans özelliklerindeki varyasyonların nasıl geliştiğine dair fikir verir (158).

Tablo 1. *Shigella* spp. türlerinin sınıflandırılması (159)

CİNS	SEROGRUP	SEROTİP
<i>S. dysenteriae</i>	A	1-15
<i>S. flexneri</i>	B	1-6 (15 in alt tipi)
<i>S. boydii</i>	C	1-18
<i>S. sonnei</i>	D	1

Shigella cinsi indol (+), üre ve oksidaz (-) olup laktozu fermente etme yetenekleri bulunmaz, gaz ya da hidrojen sülfid üretimi bulunmamaktadır. Suşlar, 20°C ve 46°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilme özelliğine sahiptir, fakat optimum 37°C’de ve 5,0 ila 7,5 arasında bir pH düzeyinde üremektedirler (161).

O antijenleri ısıya son derece dirençlidir. Kimi *Shigella* suşlarında kapsül yapısında oldukça önemli olan K antijeni bulunmaktadır. Bu antijen O antijenine bağlı serolojik tiplendirmeyi engellemektedir. Bakteri süspansiyonu 100°C’de bir saat kaynatılarak K antijeni uzaklaştırıldığında, O antijeni uygun antiserumla çökelme vermektedir. *Shigella* türleri hareketsiz olduklarından H antijenleri bulunmamaktadır (162).

Shigella ’lar 3 farklı enterotoksin salgılar:

1- *Shigella* enterotoksin 1 (shET1)

2- *Shigella* enterotoksin 2 (shET2)

3- *Shiga* toksin (Stx)

ShET 1 toksini, kromozomları vasıtasıyla kodlanır ve bütün *S. flexneri* 2a serotipleri bu toksini salgılamaktadır. Bu toksin öteki *Shigella* türlerinde seyrek olarak görülmektedir. shET2 toksini, *Shigella* virülansından görevli olan büyük plazmid üstünde yer alır ve değişik *Shigella* serotipleri bu toksini

salgılamaktadırlar. Stx toksini, kromozomda bulunan genler aracılığıyla kodlanmaktadır. Enterotoksik, sitotoksik ve nörotoksik etkili toksindir. Yalnızca *S. dysenteriae* serotip 1 bu toksini salgılamaktadır. Bu toksin kalın barsağı, böbreği ve santral sinir sistemini etkiler ve vasküler lezyona neden olmaktadır (163).

Enterotoksik etki; *Shiga* toksin, ince barsak reseptörlerine yapışır ve barsak lümeninde elektrolit, glikoz ve aminoasitlerin emilmesini engellemektedir. Sitotoksik etkisi; *Shiga* toksin B alt birimi, konakçının kalın bağırsağındaki hücre glikolipidine bağlanır, A1 reseptör endositoz kanalıyla hücrenin içerisine geçer ve 60S ribozomal alt ünitenin geri dönüşümsüz inaktivasyonuna sebep olmaktadır. Böylelikle barsakta hücre sentezine, mikrovasküler tahribata ve hemorajiye sebep olmaktadır (164).

Nörotoksik etki; Ateş ve kramplar nörotoksisite semptomlarıdır (164). Besiyerlerinde üreyen şüpheli koloniler TSI agarda biyokimyasal ya da serolojik olarak irdelenebilir. *Shigella* türlerinin biyokimyasal niteliği olarak bu besiyerinde tüpün yatık kısmı bazik (pembe) ve dip kısmı asidik (sarı) özellik göstermektedir (164).

Shigella'lar H₂S yapmazlar. Metil kırmızısı testi (+), Voges-Proskauer (-), Simmon's sitrat testleri ve üreaz testleri (-)'tir. Lizin dekarboksilazları negatiftir. *S. flexneri*, *S. boydii* ve *S. dysenteriae* biyokimyasal özellikleri açısından benzerlik gösterirler. *S. sonnei*nin ornitin dekarboksilaz ve beta-galaktozidaz aktivitesini göstermesi ve indol testlerinin (-) olmasından dolayı öteki *Shigella* türlerinden ayrılmaktadır (165). *Shigella* türleri arasındaki biyokimyasal farklılıklar tablo 2'de gösterilmiştir (166). *S. dysenteriae* mannitol fermentasyonu yapamamaktadır ve bu özelliği ile öteki *Shigella* türlerinden ayrılmaktadır (161). *Shigella* türleri arasındaki karbonhidrat kullanımının farklılıkları tablo 3'te özetlemiştir (166). Pekçok *Shigella* türü bakterilerin O antijenleri birtakım *E. coli* türü bakterilerin antijenleriyle benzerlikler göstermektedir. Kimi zaman da çapraz tepkime vererek bu bakterinin karıştırılmasına sebep olabilmektedir. Serolojik olarak negatif sonuç veren şüpheli kolonilerin daha ileri biyokimyasal testlerle incelenmesi gerekmektedir (165, 166).

Tablo 2. Shigella türleri arası biyokimyasal farklar (166)

Biyokimyasal test	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Serotip	A	B	C	D
Betagalaktozidaz	-	-	-	+
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	+
İndol yapımı	+	+	+	-

Tablo 3. Shigella türleri arasındaki karbonhidrat kullanım farklılıkları (166)

	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Laktoz	-	-	-	-
Mannitol	-	+	+	+
Raffinoz	-	+	-	-
Sukroz	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	+	-

1.2.4.3. Patogenez

Shigella spp. fekal-oral yolla bulaşır ve kontamine yiyecek ve içecekler ile insan vücuduna girer. Bakteriler oldukça bulaşıcıdır, çünkü 10 ile 100 kadar mikroorganizma hastalığa neden olmak için yeterlidir (167). Bu düşük enfeksiyöz doz, *S. flexneri*'nin midede asidik ortamda hayatta kalmasını sağlayan etkili asit direnç sistemlerinin varlığına bağlanır (168). Ayrıca, *Shigella spp.* bağırsakların mukozal yüzeylerinden sürekli olarak salınan önemli antibakteriyel efektörler olan antimikrobiyal peptitlerin ekspresyonunu azaltabilir. Mide ve ince bağırsaktan geçtikten sonra, bakteri enfeksiyon oluşturdıkları kalın bağırsağa ulaşır (169).

Shigella patogenezinin altında yatan mekanizmalar hakkındaki mevcut bilgilerin çoğu *S. flexneri*'nin çalışmalarından elde edilmiştir. İnvaziv patojen *S. flexneri* ile enfeksiyon çok aşamalı bir süreçtir. Bağırsak mukozasına erişmek için *S. flexneri*, vücudu ortak ve patojenik bakterilerin istilasına karşı korumak için bir bariyer olarak gelişen bağırsak epitelini geçer (170).

Enfeksiyonun ilk aşamasında, *S. flexneri* epitel bariyerini apikal taraftan işgal etmez, bunun yerine mikrofild hücrelere (M hücreleri) alımını tetikler ve epitel tabakası boyunca transitoz ile içeri girer (171). M hücreleri, bağırsak lümeninden parçacıkları tanımlayıp ve bunlara karşı bağışıklık tepkilerinin başlatılabildiği altta yatan mukozal lenfoid dokuya ileten kompleks epitel

hücreleridir (172). M hücrelerinin bir giriş portu olarak kullanılması, *S. flexneri*nin polarize epitelyal hücrelerin (EC) apikal yüzeyi ile zor etkileştiği ve bu hücrelere tercihen bazolateral kutup içinden girdiği in vitro olarak izlenmiştir (173). Transitozdan sonra, *S. flexneri* intraepitelyal bir cebe bırakılır, burada bakteriler gelen materyali parçalayan makrofajlarla karşılaşır. *S. flexneri*, hızla apoptozu indükleyerek makrofajlarda hayatta kalmasını sağlar (174). Makrofaj hücre ölümüne, proinflamatuvar sitokinler interlökin-1 β (IL-1 β) ve interlökin-18 (IL-18) salınımı eşlik eder (155). Her iki sitokin de *S. flexneri* tarafından ortaya çıkan akut ve masif inflamatuvar yanıtın kritik araçlarıdır. IL-1 β sinyali, şigelozun güçlü bağırsak iltihabı özelliğini tetiklerken, IL-18, etkili bir antibakteriyel yanıtın oluşumunda rol oynar (175). IL-18, doğal öldürücü (NK) hücreleri aktive eder ve gama interferon (IFN- γ) üretimini teşvik eder, böylece doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini güçlendirir (176).

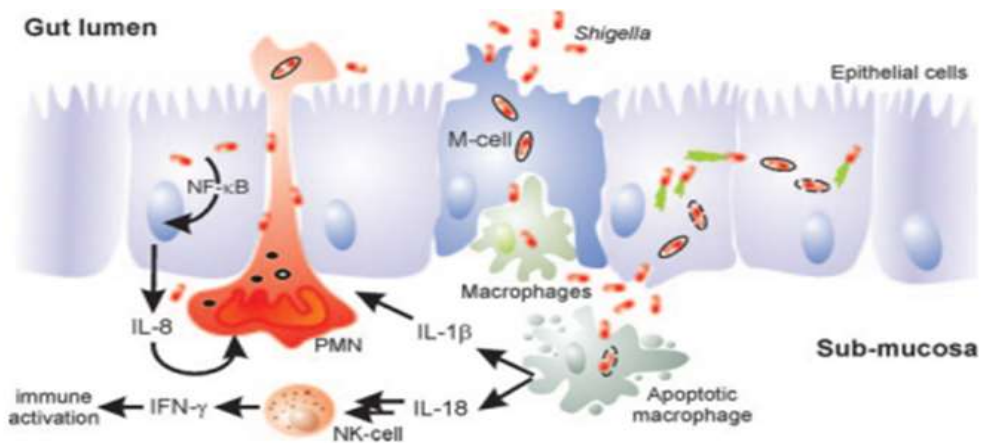
Ölmekte olan makrofajdan serbest bırakıldıktan sonra *S. flexneri*, bazolateral taraftan EC'ye geçip, fagozomdan kaçabilir ve sitoplazmada çoğalır (177). Sitoplazmik *S. flexneri*, bakterinin komşu EC'ye yayılmasını sağlayan ve konakçı bağışıklık savunmasının hücre dışı bileşenlerine maruz kalmayı önleyen aktinin yönlendirilmiş polimerizasyonu ile hareket eder (178). Bununla birlikte, EC'nin istilasını da güçlü bir inflamatuvar yanıt ortaya çıkarır. Nod1 aracılı hücre içi gözetim sistemi, *S. flexneri* tarafından salınan bakteriyel peptidoglikan parçalarını algılar ve kemokin IL-8'in yukarı regülasyonunu ve salgılanmasını tetikleyen nükleer faktör κ B'yi (NF- κ B) aktive eder (179, 180). IL-8, enfeksiyon yerine büyük bir polimorfonükleer nötrofil lökosit (PMNL) alımına aracılık eder (180). Ayrıca, son bulgular *S. flexneri*nin PMNL göçünü desteklemek için enfekte olmuş EC'nin transkripsiyonel yanıtını aktif olarak şekillendiren efektör proteinleri salgıladığını göstermektedir (181).

Hücreye giren PMNL epitelyal bütünlüğünü bozar, böylece daha fazla bakterinin M hücrelerine ihtiyaç duymadan submukozaya ulaşmasını sağlar (182).

S. flexneri sıkı bağlantı protein bileşimini değiştirerek EC sıkı bağlantılarının geçirgenliğini zayıflatır (183). Böylece, makrofajı etkisiz hale getirme, epitel tabakasının tahrip edilmesi ve PMNL göçü bakteriyel enfeksiyonu ve doku

lezyonunu şiddetlendirir. Bu süreçler ishalin gelişmesi ve şigellozun karakteristik patolojisi için gereklidir (184). IFN- γ *S. flexneri* enfeksiyonuna karşı doğuştan gelen direnç için önemli bir rol oynar (185). Makrofajların aktivasyonu ve bunların *S. flexneri* ile tetiklenen hücre ölümünden korunması IFN- γ 'nın etkilerini açıklamaktadır (185).

Şigelloz sulu ishalden kanlı ve mukuslu ishale kadar çeşitli klinik tablolar oluşturabilir. Şigelloz ishali ciddi doku yıkımına neden olduğu için su ve besin maddelerinin emiliminin bozulmasına neden olur. Elektrolit homeostazının bozulması ve kontrolsüz iyon ve sıvı sekresyonu gibi membran işleyişindeki değişiklikler diyare hastalıklarında tipiktir (186). Bununla birlikte, şigelloz sırasında ishalin başlangıcının altında yatan kesin mekanizma hala yeterince tanımlanmamıştır. Özellikle, çeşitli *Shigella* suşları tarafından üretilen *Shigella* enterotoksin 1 (ShET1) ve *Shigella* enterotoksin 2 (ShET2)'nin bağırsakta sıvı salgılanmasına neden olduğu ve bu nedenle ishalin sulu fazını açıkladığı bulunmuştur (187). Ayrıca, sadece *S. dysenteriae* serotipi 1 tarafından üretilen *Shiga* toksini, çeşitli hücre tipleri için sitotoksiktir ve kolon, böbrek ve merkezi sinir sisteminde vasküler lezyonların gelişmesinden sorumludur (188). *Shiga* toksininin yüksek toksisitesi nedeniyle, *S. dysenteriae* serotip 1 ile enfeksiyonlar sıklıkla hayatı tehdit eden komplikasyonlarla ilişkilidir (188).



Şekil 3. *Shigella* türlerinin hücresel patogenezi (188)

S. flexneri, EC bariyerini transitoz ile M hücreleri üzerinden geçirir ve makrofajlarla karşılaşır. Bakteriler, proinflamatuar sinyal eşliğinde apoptoz benzeri

bir hücre ölümünü indükleyerek makrofajlarda bozunmadan kaçınırlar. Serbest bakteriler EC'yi bazolateral taraftan istila eder, vektörel aktin polimerizasyonu ile sitoplazmaya geçer ve bitişik hücrelere yayılır. Makrofajlar ve EC tarafından proinflamatuvar sinyal, NK hücrelerini içeren doğal immün yanıtı aktive eder ve PMNL'yi çeker. PMNL akışı, başlangıçta daha fazla bakteri istilasını kolaylaştırarak enfeksiyonu ve doku tahribatını arttıran EC astarını parçalamaktadır. Sonuçta, PMNL fagositoz ile *Shigella*'yı öldürür, böylece enfeksiyonun çözümüne katkıda bulunur (188). *Shigella*'nın hücreden girerek patogeneze oluşumuna kadar süren olayların şematik gösterimi şekil 3'te verilmiştir (188).

1.2.4.4. Epidemiyoloji

Shigella türlerine bağlı bakteriyel dizanteri, önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Dünya genelinde her yıl *Shigella* ishal veya dizanteri vakası ve ilişkili ölümler ortaya çıkmaktadır. *Shigella* bulaşı doğrudan kişiden kişiye veya kontamine yiyecek ve sudan oluşabilir (189). Gelişmiş ülkelerde, çoğu vaka semptomatik enfeksiyonu olan bireylerden fekal-oral yayılım ile bulaşmaktadır. ABD'deki salgınlar çoğunlukla gündüz bakım merkezleri gibi kurumlarda ve daha seyrek olarak gıda ya da içme sularının ortak kaynaklarının kirlenmesinden kaynaklanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde, hem fekal-oral yayılma hem de yaygın gıda ve su kaynaklarının kirlenmesi önemli bulaş yoludur (189).

ABD'de, *Shigella* enfeksiyonu insidansı yıllar içinde önemli ölçüde azalmıştır (1996'dan bu yana %57 oranında) (190). 2010 yılında, ABD'de tanı almış şigellozun ortalama insidansı 100.000 kişide 3,8 vaka idi; Şigelloz *Salmonella* ve *Campylobacter* enfeksiyonundan sonra üçüncü sıradadır (190). ABD'de, şigelloz ağırlıklı olarak çocukları etkiler; 2010 yılında, 4 yaşından büyük çocuklar arasında görülme yaygınlığı 100.000 kişide 16,4 vaka ve 5-9 yaş arası çocuklar arasında görülme yaygınlığı 100.000 kişide 11,7 vaka olmuştur (191). 2005-2006 dönemi FoodNet verileri gözden geçirildiğinde, 5 yaşın altındaki çocuklarda her yıl 62.500 *Shigella* ishali vakasının meydana geldiği izlenmiştir (192). ABD'de, *Shigella* vakaları en sık Haziran-Ekim ayları arasında görülür ve daha az sayıda vaka Aralık-Şubat aylarında görülür (193).

ABD’de *Shigella* vakalarının çoğu *S. flexneri* ile oluşur, *S. sonnei* sonraki en sık görülen türdür (194).

Gıda kaynaklı bulaş ve salgınlar sıktır. Dışkı ile kontamine olan çiğ sebzeler, salgınlarda yer alan en yaygın gıda kaynaklı bulaş biçimidir (195).

Sahra altı Afrika ve Güney Asya’da *Shigella*, beş yaşından küçük çocuklar arasında orta ile şiddetli ishalin en yaygın nedenidir (196). Yetersiz alt yapı, yüksek oranda *Shigella* bulaşı ile ilişkilidir. Peru’lu Amazon’daki çocuklar arasında yapılan bir çalışmada, 6 yaşın altındaki çocuklar arasında yılda %0,34 *Shigella* ishal vakası görülmüştür (197).

Birçok ülkede, *S. flexneri* baskın türdür; *S. sonnei* ikinci en yaygın olanıdır (198).

Emzirmenin *şigelloza* karşı önemli bir koruma sağladığı görülmektedir ve *şigelloz* hastalığından korunmak için emzirme teşvik edilmelidir (199).

1.2.4.5. Klinik

Shigella, kolonun, özellikle rektosigmoid kısmının enfeksiyonudur. *Shigella* gastroenteriti olan hastalar tipik şekilde yüksek ateş, karın krampları ve kanlı, mukoid diyare ile başvururlar (200):

- Ateş %30-40
- Karın ağrısı %70-93
- Mukoid ishal %70- 85
- Kanlı ishal %35-55
- Kusma %35

Kuluçka süresi ortalama üç gün olmak üzere bir gün ile bir hafta arasında değişiklik göstermektedir (201). Hastalık tipik olarak ateş, anoreksiya ve halsizlik gibi semptomlarla başlar. Başlangıçta ishal suludur, ancak daha sonra kan ve mukus içerebilir. Tenesmus yaygın bir şikayettir. Dışkı sıklığı genellikle günde 8 ile 10'dur, ancak günde 100'e kadar yükselebilir. Önemli sıvı kaybı nadirdir (günde ortalama yaklaşık 30 mL / kg) (202). Hastalığın şiddeti, enfekte organizmanın serogrubuna bağlı olarak değişir. *S. sonnei* genellikle sulu ishal ile sınırlı olabilen

hafif bir hastalığa neden olurken, *S. dysenteriae* veya *S. flexneri* yaygın olarak dizanterik semptomlara (kanlı ishal) neden olur. İmmünokompetan bir konakçıda, hastalığın seyri çoğunlukla kendi kendini sınırlamakta ve tedavi edilmediğinde yedi günden fazla sürmez. *Shigella* enfeksiyonu bazı komplikasyonlara yol açabilir (203).

1. Bağırsak komplikasyonları; Proktit veya rektal prolapsus; bebeklerde ve küçük çocuklarda, organizmanın kolon mukozasına invazyonu ile rektum ve distal kolonda şiddetli inflamasyon proktit veya rektal prolapsusa neden olabilir (204).

Toksik megakolon: Toksik megakolon öncelikle *S. dysenteriae* enfeksiyonu durumunda ortaya çıkar. Bu komplikasyonun patogenezi belirsizdir; pankolit ortamında ortaya çıkar ve *Shiga* toksinininden ziyade inflamasyonun yoğunluğu ile ilişkili gibi görünmektedir. Bangladeş'te ishal tedavi merkezine başvuran hastalar arasında toksik megakolon insidansı yüzde 3 olarak belirtilmiştir (205).

Bağırsak obstrüksiyonu: Şiddetli hastalık, bağırsak obstrüksiyonuna neden olabilir. Obstrüksiyonu olan hastaların *S. dysenteriae* ile enfekte olma ihtimali daha fazladır (206).

Kolon perforasyonu: Kolon perforasyonu, şigellozun oldukça nadir bir komplikasyonudur. Esas olarak bebeklerde veya beslenmesi zayıf hastalarda görülür ve *S. dysenteriae* veya *S. flexneri*ye bağlı enfeksiyon ile ilişkilidir (207).

2. Sistemik komplikasyonlar: Şigelloz bir takım sistemik komplikasyonlarla ilişkili olabilir.

Bakteriyemi: Bakteriyemi insidansının %0-7 arasında olduğu bildirilmiştir (208). Bakteriyemi ile ilişkili bulgular lökositoz, 39,5°C'nin üzerindeki ateş, şiddetli dehidratasyon ve uyuşukluktur (209). Bakteriyemi, çocuklarda yetişkinlerden daha yaygındır ve öncelikle beş yaşından küçük çocuklarda görülür (208, 209). Literatürde yetişkinler arasında tarif edilen 22 bakteriyemi vakası arasında, hastaların üçte biri 65 yaşından büyüktür ve yarısından fazlasında altta yatan bir rahatsızlık (en yaygın diyabet) vardır (210).

Bakteriyemi artmış ölüm riski ile ilişkilidir (209). Küçük, yetersiz beslenen çocuklar en büyük risk altındadır. Ayrıca *Shigella* enfeksiyonu, HIV pozitif hastaların ölüm oranlarını artırmaktadır. Güney Afrika'daki sistemik şigelloz üzerine gerçekleştirilen bir araştırmada, HIV ile enfekte hastaların, HIV ile enfekte olmamış bireylere göre ölme olasılıkları daha yüksek olarak saptanmıştır (211).

Metabolik bozukluklar: Dışkı hacmi genellikle düşük olduğundan, şigellozda önemli miktarda sıvı kaybı nadirdir (200). Hiponatremi genellikle sıvı kaybından değil, uygunsuz antidiüretik hormon sekresyonu sendromundan kaynaklanır (205). Protein kaybeden enteropati de görülebilir (212).

Lösemik reaksiyon: 50.000/mm³'lük bir beyaz kan sayımı olarak tanımlanan lösemik reaksiyon en sık 2 ile 10 yaş grubundaki çocuklarda hastaların yaklaşık %4'ünde izlenir (213).

Nörolojik hastalık: Nöbetler, *Shigella* enfeksiyonu ile ilişkili en yaygın nörolojik komplikasyondur. Tekrarlama eğilimindedirler ve spesifik nörolojik defisitlerle ilişkili değildirler, ancak daha yüksek ölüm riski ile ilişkilendirilmişlerdir. Nöbetler neredeyse sadece 15 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Nöbetlerin ortaya çıkması ateş yüksekliği (genellikle 39°C'den daha yüksek), lökositlerin oranının artması, düşük serum sodyum ve yüksek serum potasyumu ile ilişkilidir. Tüm *Shigella* serotipleri ile enfeksiyon sırasında nöbetler gözlemlenmiştir (214).

Ekiri sendromu: Özellikle ölümcül bir şigelloz olarak bilinen bu sendrom, İkinci Dünya Savaşı öncesi dönemde Japonya'da yılda 15.000 ölümden sorumluydu (205). Ekiri sendromu *S. sonnei* enfeksiyonu ile ilişkilidir ve yüksek ateşi ve dizanteri semptomları olan hastalarda hızlı nöbet ve koma gelişimi ile karakterizedir. Fulminan seyrinin mekanizması belirsizliğini korumaktadır (215).

Reaktif artrit: *S. flexneri* enfeksiyonunu takiben reaktif artrit, tek başına veya konjonktivit ve üretrit ile birlikte görülebilen nadir bir komplikasyondur (215). Artrit, steril bir inflamatuvar artritir. Dizanteri için antibiyotik tedavisi alan veya almayan hastalarda artrit semptomları bir iki hafta içinde görülebilir. Artritli hastaların yaklaşık yüzde 70'i HLA-B27 pozitifdir (216).

Hemolitik üremik sendrom: Nispeten nadir görülmesine rağmen, hemolitik üremik sendrom (HÜS) dünya genelinde bebekler ve küçük çocuklar arasında akut böbrek yetmezliğinin en yaygın sebebidir (217). Çocuklarda HÜS vakalarının %90'ı bir ishal prodromu takip eder; en sık *enterohemorajik E. coli* (özellikle tip O157:H7) enfeksiyonundan kaynaklanır, ancak *S. dysenteriae* enfeksiyonu ile de indüklenebilir (204).

Hastalar ilk haftanın sonunda ve diyare veya dizanteri semptomlarının iyileşme aşamasında mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği (başlangıçta oligürik ve sonra anürik) kombinasyonu ile başvururlar. Ateş ve geçici nörolojik semptomlar varsa, hastada trombotik trombositopenik purpura olduğu düşünülebilir. Nöbetler yaklaşık %10, inme veya serebral ödem %5 oranında görülür. HÜS veya TTP patogenezi incelendiğinde vasküler endotele karşı sitotoksik hasar oluşturduğu görülmüştür. Çoğu çalışmada, *S. dysenteriae* tarafından *Shiga-toksin* üretiminin doğrudan neden olduğu düşünülmektedir (217).

Diğer belirtiler: Genç kızlarda *Shigella* ishalleri veya ishalsiz vajinite veya vulvovajinite neden olabilir (218). Vajinal akıntı genellikle ağrısızdır ve kanlı olabilir. Tedavi edilmeyen *Shigella* vajiniti birkaç ay sürebilir. *Shigella* nadir bir keratit nedenidir ve yakın zamanda diyare hastalığı olan veya yakın zamanda maruz kalmış küçük çocuklarda keratit veya konjonktivitinin nedeni olarak düşünülmelidir (219). Akut miyokardit iki çocukta akut *S. sonnei* gastroenterit ile ilişkilendirilmiştir (220).

1.2.4.6. Tanı

Shigella doğal florada bulunan bir bakteri olmasına rağmen miktar olarak diğer normal flora bakterilerinden az sayıdadır. Bu sebeple normal flora bakterileri *Shigella*'nın çoğalmasını baskılamaktadır. Bunun için seçici niteliğe sahip besiyerleri kullanılmaktadır. Kültür için en az iki değişik besiyerine ekim yapılması gerekmektedir. Bu besiyerleri; mac conkey agar ve EMB, deoksikolat sitrat agar (DCA) (Leifson's besiyeri), SS agar ve XLD agardır. Bu besiyerlerinin seçici olmasını sağlayan sodyum deoksikolat, *Shigella*'nın çoğalmasına yardımcı olur,

normal floradaki gram (-) bakterilerin çoğalmasını ise engellemektedir. Ancak SS agarın, *S.dysenteriae*nin çoğalmasını baskılama özelliği bulunmaktadır. *Shigella*'lar laktozu kullanamadıklarından dolayı besiyerinde renksiz koloniler meydana getirirler. Bu nitelikteki koloniler, biyokimyasal ve serolojik olarak irdelenip saptanmaları yapılmaktadır (154, 221).

1.2.4.6.1. Serolojik Tanı

Shigella suşlarının tespit edilebilmesi için kullanılan başka bir metot olan serolojik testler; *S. dysenteriae* (A Grubu), *S. flexneri* (B Grubu), *S. boydii* (C Grubu) ve *S. sonnei* (D Grubu) suşlarını tanımlar. Bu suşlarda A Grubu, B Grubu, C Grubu ve D Grubu olarak dört antijen grubuna ayrılmaktadır. Bu testlerde ilk olarak *Shigella* suşlarına polivalan O antijeni bulunan antiserumlarla lam aglütinasyonu yapılmaktadır. Daha sonra ise serotipini de saptayabilmek için monovalan antiserumlarla tanımlama yapılmaktadır (154).

1.2.4.6.2. Sereny Testi

Tavşan ya da sıçanların gözüne *Shigella* bakteri süspansiyonu damlatılarak keratokonjonktivit oluşumuna bakılmaktadır. Bu test *Shigella*'ların epitel hücrelerini hasara uğrattıklarını göstermektedir. Bununla birlikte bu test EIEC suşlarında da pozitifdir (221).

1.2.4.6.3. Moleküler Teknikler

Moleküler teknikler besinlerle hastalık etkeni olan mikroorganizma çeşitlerini taksonomik düzeyde tespit edebilmek ve mikrobiyal yüklerini saptamak hedefiyle sık şekilde kullanılmaktadır. Nükleik asitlerin hibridizasyonu temelli olan bu yöntemler içinde en fazla uygulanan teknik ise yüksek duyarlılığı olan ve çok yönlü özelliğe sahip PCR tekniğidir. PCR esas olarak DNA üzerinde saptanan hedef bölgenin o bölgeye spesifik primerlerle fazla sayıda kopyasının meydana getirildiği bir reaksiyondur. PCR sonrasındaki ürünlerin bulunması elektroforez tekniği ve çoğunlukla floresan bir boya olan etidyum bromür ile boyanmış DNA'nın görüntülenmesi sonucunda belirlenebilmektedir. Elektroforez tekniğinde kullanılan DNA belirteçleri ile de yarı kantitatif sonuç alınabilmektedir. Bununla birlikte bir sonraki adım olarak nükleotid dizileme teknolojinin uygulanmasına yardımcı

olmaktadır. Böylece genom ile ilişkili daha fazla ve daha güvenilir bilgiler elde edilmektedir. Real Time PCR teknolojisi ilk defa Higuchi ve arkadaşlarının her bir amplifikasyon ürününü etidyum bromür ile görüntüleyebilmek için yaptıkları sistem ile keşfedilmiştir (222). Bu teknoloji floresan işaretli veya boyalı PCR ürünlerinin, ışık kaynağının meydana getirdiği ışımlar ile uyarılması sonucunda ışıma yayması ve yaydığı ışımların algılanarak gözlenebilir duruma getirilmesi ile oluşan bir sistemdir. PCR'ın kinetik kazanması ile oluşan bu teknolojinin PCR'dan en önemli farkı hedef bölgenin lineer olarak logaritmik artışının eş zamanlı olarak gözlenebilmesi ve buna bağlı olarak kantitatif analiz yapabilme imkanı sunmasıdır (223).

1.2.4.7. Tedavi

Shigella enfeksiyonu genellikle kendi kendini sınırlar; tedavi edilmemiş *Shigella* gastroenteriti ile ilişkili semptomların ortalama süresi yedi gündür (224). Spesifik antibiyotik tedavisinin ardından, *Shigella* gastroenteriti olan hastalar, semptomların giderilmesinden sonra altı haftaya kadar organizmayı dökebilir. Bakteriyemi, obstrüksiyon veya perforasyon ile sonuçlanan şiddetli kolon hastalığı dahil *Shigella* gastroenterit komplikasyonları yetişkinlerde nadirdir. Bununla birlikte, altta yatan immün yetmezliği (HIV enfeksiyonu dahil) veya yetersiz beslenmesi olan bireyler, *Shigella* enfeksiyonunun komplikasyonları için daha çok risk altındadır (225). Hidrasyon, gastrointestinal sistemden sıvı kaybını telafi etmek için önemlidir; çoğu durumda oral rehidrasyon yeterlidir.

Shigella türlerinin artan antimikrobiyal direnci *Shigella* gastroenteritinin tedavisinde önemli bir problemdir. Bu sebeple, *Shigella* enfeksiyonu olan tüm hastaların yönetimi için antibiyotik duyarlılık testi şarttır. Antibiyotik tedavisi endikasyonları: *Shigella* enfeksiyonu kesinleşmiş semptomatik yetişkin hastalar için antibiyotik tedavisi önerilmektedir. Antibiyotikler, *Shigella* enfeksiyonunun neden olduğu ateş ve ishalin süresini yaklaşık iki gün kısaltmakta etkilidir. Antibiyotik tedavisi ayrıca dışkıda patojenin dökülme süresini kısaltır ki bu ikincil sonuç kesin olarak kanıtlanmamış olmasına rağmen, kişiden kişiye yayılma riskini azaltması beklenmektedir. Bununla birlikte, çoğu bireyde enfeksiyon kendiliğinden temizleneceği için antibiyotik tedavisi gerekli değildir (226).

İlaç direnci için açık bir risk etkeni olmayan hastalar için, bir florokinolon iyi bir ampirik seçenektir. Çoklu ilaç direnci yüksek olan bireyler için ampirik tedavi, duyarlılıklar mevcut olana kadar üçüncü nesil sefalosporin (sefiksime veya seftriakson) içerebilir. Antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları antibiyotik rejimi seçimine rehberlik etmelidir. Tedavi seçenekleri genellikle bir florokinolon, azitromisin ve bir üçüncü kuşak sefalosporin (sefiksime veya seftriakson) içerir. Duyarlılık belgelenirse, trimetoprim-sülfametoksazol ve ampisilin de seçeneklerdir (226).

1.2.5. Enterohemorajik E. Coli

Escherichia coli, barsak florasında en fazla bulunan fakültatif anaerob bakteri türüdür. Hemen hemen 2-6 µm uzunluğunda, 1-1,5 µm çapında basil şeklinde, sporsuz, kapsülsüz bakterilerdir. Peritriş kirpikleriyle hareket etmektedirler. Toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olmasıyla beraber hastane kaynaklı enfeksiyonların da sorumlusu olan fırsatçı bir patojen bakteri türüdür (227).

*Escherichia coli*nin bazı suşları barsakta üreyerek ishal yaparlar. Bu *E. coli* enteropatotipleri virölans etkenlerine, enfeksiyon mekanizmalarına, enterositle etkileşimine, doku tropizmine, belirtilere ve sendromlara göre sınıflandırılmaktadırlar (227).

- a. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) (Shiga toksin üreten *E. coli*) (STEC)
- b. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)
- c. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)
- d. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)
- e. Enteroaggregatif *E. coli* (EAaggEC) (227, 228).

1.2.5.1. Tarihçe

Kaliforniya'lı ciddi, kanlı ishalleri olan bir kadın hastadan izole edilen *Escherichia coli* O157:H7 (Enterohemorajik *E. coli*, Verotoksijenik *E. coli*) ilk defa 1975 yılında bildirilmiştir. *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan ve sığır eti hamburgerlerin yeteri kadar pişirilmeden tüketilmesi sonucunda ortaya çıkan *E. coli* türü bakterinin

patojen bir serotipi olan *EHEC* O157:H7 halk sağlığı bakımından son derece önem teşkil etmektedir. Oregon ve Michigan’da (229) 1982 yılında kanlı kolit ile seyretmekte olan, besin orijinli patojen bakteri olarak tespit edilmesiyle önemli hale gelmiştir. Günümüzde ABD başta olmak üzere birçok ülkede *E. coli* O157:H7, ölümle sonuçlanan besin zehirlenmelerine sebep olmaktadır (229).

1.2.5.2. Morfoloji

Enterotoksijenik E. coli (ETEC), *enteroaggregatif E. coli (EAEC)*, *enteropatojenik E. coli (EPEC)*, *enteroinvaziv E. coli (EIEC)*, sık olarak *diffüz adheran E. coli (DAEC)* veya *verositotoksijenik E. coli (VTEC)* insanlarda diyareye sebep olan *Escherichia coli* izolatlarıdır. *VTEC* izolatlarından bir tanesi olan, *Shiga toksini üreten E. coli (STEC)* O157:H7 izolatı, ishal, kanlı diyare, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom (HÜS) ile alakalıdır (230). *Enterobacteriaceae* familyası içinde *Escherichia* cinsine bağlı, *E. coli*, Gram (-), fakültatif anaerob, genellikle hareketli, sporsuz, çubuk biçiminde bir bakteri türüdür (231). Hareketsiz izolatları da bulunmaktadır. EMB agarda metalik refle veren koloniler ve MacConkey agarda pembe koloniler oluşturmaktadır. Sitrat ve oksidaz testleri olumsuzdur. İndol ve Metil Red (MR) testleri olumludur. IMViC testleri (++--) dir. H₂S çoğunlukla oluşturmamaktadırlar. *E. coli* pek çok karbonhidratı (laktoz, mannitol, glikoz) asit ve gaz oluşturunarak fermente etmektedir. Nitratları nitrite indirgerler. *E. coli*lerin somatik O, kamçılılar H, kapsüller K ve fimbrial (pilus) antijenleri bulunmaktadır (231).

1.2.5.3. Patogenez

Enterohemorajik E. coli, gelişim göstermekte olan ülkelerde etkili olan bir patojendir ve yalnızca ishale sebep olmayıp hemorajik kolit ve HÜS’e de sebep olmaktadır (165, 227, 232, 233). Hastalık oluşturmada bir sitotoksin olan shiga toksin sorumludur. Kolonda submukozada ödem, fibrin depolanması, mukozal ülserasyon, nötrofil infiltrasyonu, mikrovasküler trombüslere ve kanamaya sebep olmaktadır. Böylece psödomembranöz kolit görülebilmektedir (228).

Shiga like toksin: S. dysenteriae tip I in ürettiği toksinle benzer olan (*shiga like toksin*, Stx1 ve Stx2) toksinler üretmektedir. Bu *shiga like toksinler* vero

hücrelerine sitotoksik etki gösterdiklerinden dolayı verotoksinler (Vt1 ve Vt2) olarak da isimlendirilirler. Vt 2 ve bilhassa Vt 2a'nın, Vt1'den daha yüksek oranda komplikasyonlara neden olduğu belirtilmektedir. *E. coli* O157:H7 izolatının toksini olan Stx1, *S. dysenteriae* tip I toksininden yapısal olarak bir aminoasit farklılık içerir ve antijenik yapılarından bu toksinlerin değişiklikleri ayırt edilememektedir. Stx 2 ise bu toksinlere %50-60 gibi yüksek bir miktarda benzerlik göstermektedir ve Stx 2, 2c, 2d, 2e ve 2f olmak üzere 5 değişik biçimde toksin içermektedir. *Shiga like toksin üreten E. coli (STEC)* bu toksinlerin bir tanesini veya her ikisini beraber üretebilmektedir. İnsanlarda ağır klinik belirtilere sebep olan toksin daha çok Stx2 üreten *E. coli* O157:H7 serotiplerinin sebep olduğu enfeksiyonlarda görülmektedir. Bilhassa HÜS'e sebep olan toksin Stx 2'dir. Bu Stx1 ve Stx2 toksinleri *shiga like toksin* gibi, toksijenik etkiyi oluşturan bir tane A alt ünite ve hücreye girişi sağlayan beş tane B alt ünite içermektedir. A alt ünitesi hücrede 60S ribozomunda 28S rRNA'ya etki ederek bir adenin molekülünün çıkmasına neden olarak protein sentezini durdurur ve böylelikle hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. B alt birimi, globotriaosylceramide-3'e (Gb3) bağlanan beş parçalı bir yapı meydana getirir ve bu *shiga like toksininin* patofizyolojisine aracılık ettiği yeri belirlemektedir. Toksin, Gb3 eksprese eden endotel hücrelerine bağlanır. Gb3'ü eksprese eden dokular ve hücre tipleri, konakçılar arasında değişiklik göstermektedir. Stx'ler gastrointestinal sistemde üreyip sayılarını artırıp dolaşıma geçerek bağlanabildikleri reseptör içeren bilhassa böbreğe bağlanarak sistemik etkilere sebep olmaktadır (165, 228, 233).

1.2.5.4. Epidemiyoloji

Shiga toksini üreten E. coli, çoğunlukla neden oldukları hastalıkların ciddiyeti nedeniyle, diyare hastalığının önemli bir sebebidir. Dünya Sağlık Örgütü aracılığıyla gerçekleştirilen araştırmalara göre *STEC* enfeksiyonu insidansının yılda 2,8 milyon vaka olduğu bildirilmiştir (234).

Çoğu *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu Haziran ve Eylül ayları arasında görülmektedir. Özellikle, yaz aylarında sığırlar *E. coli* O157:H7'yi taşırlar (235). Birden fazla etiyolojiye sahip salgınlar, su veya hayvan teması yoluyla, O157:H7 salgınlarından daha fazla yayılıma sahiptir (236).

Shiga toksini üreten *E. coli* enfeksiyonu her yaştan hastada görülür. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının yaklaşık üçte biri 20 ila 59 yaşlarındaki hastalarda görülür (237). Bununla birlikte, hemolitik üremik sendrom (HÜS) en çok 5 yaşın altındaki çocuklarda görülür, bunu 60 yaş üstü yetişkinler takip eder (237). Bu yaş gruplarının en sık ve ciddi şekilde etkilenmesinin nedenleri bilinmemektedir, ancak maruziyet, bulaşma, spesifik popülasyonlarda hastalık oluşturma yeteneği, toksin reseptör hücrelerinde yaşa özel ekspresyon ve böbrek kan damarları çaplarını içerir (237).

Shiga toksini üreten E. coli öncelikle gıdalarla ve insandan insana veya hayvanlarla temas yoluyla bulaşır. *STEC* enfeksiyonlarının çoğu gıda yoluyla bulaşır. Sığır eti gıda kaynaklı salgınların en yaygın kaynağı olmuştur (238).

Tek bir gıda kategorisinin dahil edilebileceği 141 gıda kaynaklı *STEC* enfeksiyonu salgını üzerinde en yaygın araçlar sığır eti (%55), yapraklı sebzeler (%21), süt ürünleri (%11), sığır eti olmayan etler (%5), meyveler (%4), filizler (%2), fındık (%1) ve kümes hayvanlarıdır (%1). Sığır eti salgınlarının çoğu kıyma ile ilişkiliyken, %14'ü biftekle ilişkilendirilmiştir. Tüm süt kaynaklı salgınlar pastörize edilmemiş ürünlerle ilişkili bulunmuştur (238).

Escherichia coli O157:H7 için en yaygın rezervuar, sığırların gastrointestinal sistemidir. Koyun, keçi ve geyik benzeri öteki geviş getirenler, *E. coli* O157:H7'yi gastrointestinal sistemlerinde taşırlar ve potansiyel enfeksiyon kaynaklarıdır (239). Epidemiyolojik çalışmalar, domuzun *E. coli* O157:H7'yi de barındırabildiği ve dökebileceği öne sürülmüştür. Diğer gıda maddeleri ve su, kolonize hayvanların dışkısı ile temas ettiğinde kontamine olabilir (240).

STEC salgınları, hayvanlara mesleki maruziyetin yanı sıra, özellikle kötü el hijyeniyle alakalı olarak, çiftliklerde ve hayvanat bahçelerinde temasla ilişkilendirilmiştir (241).

Bulaşıcı dozun düşük miktarlarda olması, *E. coli* O157:H7 enfeksiyonunun kişiden kişiye bulaşmasını kolaylaştırmaktadır (242).

1.2.5.5. Klinik

Bulaştan sonra, *STEC* enfeksiyonları için ortalama kuluçka döneminin üç gün, 1 ile 10 gün arasında olduğu varsayılır. Yüksek riskli *STEC* (yani *E. coli* O157:H7 veya *Shiga toksin 2* için bir geni kodlayan O157 olmayan *STEC*) enfeksiyonları, genellikle kalıcı ateş olmadan kanlı hale gelen ağrılı ishal ile karakterizedir. Başlangıçta kanlı olmayan ishal tipik olarak başlangıçtan bir ile üç gün sonra görünür şekilde kanlı hale gelir; bununla birlikte, enfekte hastaların yaklaşık %15 ile 20'sinde sadece kanlı olmayan ishal görülür. Nadiren, *E. coli* O157:H7 ile enfekte olan hastalar dışkı gözle görülür şekilde kanlı hale gelmeden veya daha nadiren ilk gevşek dışkının kanlı olduğunu belirtmeden sadece birkaç saat kanlı olmayan ishal bildirir (243). İshal genellikle yaklaşık yedi gün sonra düzelir. Hemolitik üremik sendrom (HÜS), genellikle ishalin başlamasından 5 ile 13 gün sonra ortaya çıkar. Çok nadir durumlarda, yüksek riskli *STEC* ile enfekte olan hastalarda ishal yoktur, ancak yine de HÜS gelişir. *E. coli* O157:H7 enfeksiyonunun oldukça yaygın görülebilen diğer özellikleri akut başlangıçlı olması ve karın ağrısıdır (243, 244).

Hemolitik üremik sendrom: *STEC* enfeksiyonunun en önemli komplikasyonu hemolitik üremik sendromdur (HÜS). HÜS, immün olmayan hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek tahribatı üçlüsü ile karakterize edilir ve teşhis edilir (245).

Escherichia coli O157:H7 ile enfekte olmuş bir hastanın HÜS geliştirme olasılığı yaşa göre değişir. Kültürle kanıtlanmış *E. coli* bulunan 10 yaşından küçük çocukların %15 ile 20'si O157:H7 enfeksiyonu ile HÜS geliştirir. Çocukluktan sonraki HÜS oranını kesin olarak belirlemek zordur, çünkü enfeksiyon oranlarının saptanması çocuklar ve yetişkinler arasında farklılık gösterebilir ve *STEC* ile ilişkili HÜS yetişkinlerde atipik HÜS veya trombotik trombositopenik purpura olarak yanlış sınıflandırılabilir. Bununla birlikte, teşhis edilen *STEC* enfeksiyonu insidansı ergenlik esnasında ve daha sonrasında net bir biçimde düşse de, yetişkinlerde ortaya çıkan *STEC* enfeksiyonları prognoz olarak çocuklardan daha iyi değildir (245).

1.2.5.6. Tanı

Mikrobiyolojik tanı olarak *STEC*'den şüphelenildiğinde, bir gece et suyu kültürünü takiben immünoassay veya moleküler teknoloji ile *E. coli* O157:H7 ve *Shiga* toksin testi için seçici kültür için öncelikli olarak bir rektal sürüntü veya dışkı alınmalıdır. *STEC* enfeksiyonu tanısı, *E. coli* O157:H7 izole edildiğinde veya *Shiga* toksini (veya bir *Shiga* toksini kodlayan bir gen) tespit edildiğinde akut ishalli bir hastada konur (246).

Mevcut testler klinik laboratuvara göre değişebilir ve her birinin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır:

Seçici kültür -Sorbitol-MacConkey (SMAC) agar, *E. coli* O157:H7'yi izole etmek için kullanılan prototip seçici besiyeridir. Bu serotip, sorbitolu yavaşça fermente eder ve bu besiyerinde yarı saydam koloniler olarak görünür. Bu gibi koloniler biyokimyasal olarak *E. coli* olarak teyit edilebilir ve O157 antijenine antiserumlarla reaksiyon için test edilebilir (247, 248).

CHROM agar *STEC*, *E. coli* O157:H7 ve ayrıca bazı O157:H7 *STEC* izolatlarını tanımlayabilen farklı bir seçici ortamdır, ancak et suyu kültürünü takiben bazı O157:H7 *STEC* olmayan antijen immünoanalizleri kadar duyarlı olmayabilir (249).

Et suyu kültüründe inkübasyonun ardından *Shiga* toksin enzim immünolojik analizi (EIA)-EIA'lar *E. coli* O157:H7 ve O157:H7 olmayan *STEC*'i tespit edebilir, ancak agar kaplamada tespit edilen *E. coli* O157:H7'nin yaklaşık %10-15'ini tespit edemez (247).

Moleküler test-*Shiga* toksinleri 1 ve 2 için genleri tespit eden nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) içeren multipleks moleküler paneller birkaç saat içinde sonuç verebilir. Ağrılı veya kanlı ishalli bir hastadan alınan bir örnekteki bir *Shiga* toksin geninin veya dışkının et suyu kültürünün moleküler tespiti, *STEC* enfeksiyonunun hızlı bir şekilde teşhisini sağlar (250).

Shiga toksin geni NAAT tarafından tanımlanıyorsa, örnekler yine de seçici kültür için gönderilmelidir. Patojen izolasyonu epidemiyolojik analiz ve salgın takibi için kritik öneme sahiptir (251).

1.2.5.7. Tedavi

Shiga toksini üreten *E. coli* enfeksiyonları için spesifik bir tedavi yoktur. Yüksek riskli *STEC* enfeksiyonu şüphesi olan veya teyit edilen hastalar için, izotonik kristaloid (yani normal salin, %5 dekstrozu normal salin veya laktatlı Ringer çözeltisi) ile erken ve agresif intravenöz (IV) hacim yüklemesi yapılır (252). HÜS'lü çocukların iki prospektif kohort çalışmasında, HÜS öncesi hacim yüklemesi daha düşük anüri oranları ile ilişkili bulunmuştur (253). Anürik HÜS kategorik olarak anürik olmayan HÜS'den daha kötüdür, bu nedenle HÜS gelişse bile anüri olmaması sağlanmaya çalışılır (254). Anüri hastalığın 10. gününde ortaya çıkar (255). Hastalığın erken dönemlerinde IV hacim genişlemesinin *STEC* enfeksiyonlarını takiben HÜS sıklığını azalttığı veya yararının sadece anüri önlenmesinde olup olmadığı henüz bilinmemektedir, ancak bazı veriler HÜS'ü önleyebileceğini düşündürmektedir. *STEC* ile enfekte olmuş çocuklar üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada, üç gün sonra ortalama HÜS gelişenlerde, ilk başvuruda HÜS gelişmemiş olanlara kıyasla daha yüksek hematokrit ve daha düşük serum sodyum konsantrasyonları tespit edilmiştir (245). Bu bulgu, enfeksiyonun ve hacim genişlemesinin erken tanınmasının değerini güçlendirir, çünkü göreceli hemokonsantrasyon ve hiponatremi potansiyel olarak yönetilebilir risk faktörleridir (245).

Hipotonik sıvılar yerine izotonik kullanılmaktadır, çünkü çalışmalarda HÜS tanısı sırasında hiponatreminin daha kötü sonuçlarla alakalı olduğu düşünülmektedir (256). Doğrulanmış *STEC* enfeksiyonlarının (*E. coli* O157:H7 veya O157:H7 olmayan) antibiyotiklerle tedavi edilmemesi önerilmektedir. Mikrobiyolojik testlerden dolayı şüpheli *STEC* enfeksiyonlarında ampirik antibiyotik kullanılmamaktadır. Antibiyotik tedavisinin ampirik olarak başlatıldığı hastalarda *STEC* tespit edilmesi durumunda, tedavi de bırakılmaktadır. Çünkü, *STEC* enfeksiyonu olan hastalarda antibiyotik kullanımına bağlı HÜS gelişimi gösterilmiştir (257).

Antimotilite ajanları (opioidler dahil): Bu ajanlar daha yüksek HÜS riski ve HÜS gelişen kişiler arasında komplike HÜS (örneğin, merkezi sinir sistemi

disfonksiyonu ile) ile ilişkilendirilmiştir (258) ve bir çalışmada, gastrointestinal semptomları uzattığı bildirilmiştir (259).

Steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar (ketorolak dahil): Bunlar böbrek kan akışını azaltabilir ve bu nedenle teorik olarak böbrek yetmezliğinin altında yatan iskemik hasarı şiddetlendirebilir. IV ondansetron, serotonin 5-HT-3 reseptör antagonisti QT aralığını uzatabilir. Oral olarak uygulanan ondansetron daha güvenlidir, ancak *STEC* enfeksiyonlarıyla ilişkili kusmayı nadiren durdurur (260).

1.3. Paraziter Diyare Etkenleri

1.3.1. *Cryptosporidium Parvum*

Cryptosporidium parvum (*C. parvum*), memeliler, sürüngenler, kuşlar ve balıklar dahil tüm omurgalılarda gastrointestinal hastalıklarla ilişkili hücre içi protozoan parazittir. *Giardia* ile birlikte, insanlarda en yaygın parazitik enterik patojenler arasındadır. Organizmalar, sindirim veya solunum yollarının epitel hücrelerine bulaşır ve çoğalır. Enfeksiyon ağırlıklı olarak ishal ve safra yolu hastalığı ile ilişkilidir (261).

1.3.1.1. Tarihçe

Cryptosporidium ilk defa 1895'te J.J. Clarke (262) tarafından fark edilmiş "fare mide epiteli üstünde bulunan spor kümeleri" şeklinde tarif edilmiştir. 1907'de laboratuvar faresinin mide epitelini enfekte ettiği tespit edilen bu paraziti, E.E. Tyzer (262) tanımlamış, daha önce bilinen koksidian parazitlerin tersine ookistlerin içerisindeki sporozoitleri sarmalayan sporokistlerinin keşfedilmesiyle *Cryptosporidium* (gizli sporokistler) olarak adlandırılmıştır. Tyzer (262) 1910'da *Cryptosporidium muris* (*C. muris*)'i, 1912'de ise *C. muris*den daha küçük olan *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*)'un yeni bir tür olduğunu bulmuştur. Slavin (263) 1955 yılında hindilerde ağır ishal ve ölüme sebep olan *Cryptosporidium meleagridis* (*C. meleagridis*)'i tespit etmiştir. Günümüze kadar tespit edilen türler moleküler veriler kullanılarak gözden geçirilmiştir ve 26 değişik *Cryptosporidium* türünün var olduğu kabul görmektedir (264). *Cryptosporidium* ile ilişkili ilk insan

enfeksiyonu 1976'da, gastroenteritli 3 yaşındaki bir kız çocuğunda ve daha sonra da immün sistemi baskılayıcı ilaçlar kullanan bir çiftçide saptanmış olup, bu olgu bir çiftlikte beslenen hayvanlarda tespit edilen enfeksiyonla aynı zamanda meydana gelmiştir. Bu nedenle uzun zaman boyunca *Kriptosporodyoz*'un bir zoonoz olabileceği üzerinde durulmuştur. 1981-1982 yıllarında ise AIDS'li kişilerde *Cryptosporidium spp.* enfeksiyonları tespit edilmiş ve ağır enterite sebep olduğu belirtilmiştir. Bu hastalarda görülen, uzun süreli, bol sulu dışkı, kilo kaybı gibi semptomlar enfeksiyonun fırsatçı patojen olabileceğini düşündürmüştür. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda hayvan bakıcılarında, turistlerde ve bağışıklık sistemi sağlam bireylerde de salgınlara sebep olduğu gözlemlenmiştir (265-267).

1.3.1.2. Sınıflandırma

Cryptosporidium türlerinin sınıflandırması, ilk defa etkenin konak spektrumu, ookist morfolojisi ve enfekte ettiği dokular dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir (268-270). Parazit kompleksi şubesi, *Sporozoasida* sınıfı, *Coccidiasina* alt sınıfı, *Eucoccidiorida* takımı, *Eimeriorina* alt takımı, *Cryptosporidiidae* familyasında bulunmaktadır (271). *Cryptosporidium* adlı protozoonun sistematikteki yeri 1911'de Leger tarafından belirlenmiştir. *Cryptosporidium*'lar ökaryotik protozoonlar olup tek hücreli organizmalardır. DNA'ları bir çift zarla etrafı çevrili olarak nükleus içerisinde bulunmaktadır. *Cryptosporidium* etkenlerinin sistematikteki yeri şöyledir (272):

Taksonomi:

Alem: *Protista*

Kök: *Alveolata*

Kökaltı: *Apicomplexa*

Sınıf: *Coccidea*

Dizi: *Cryptosporiida*

Aile: *Cryptosporidiidae*

Cins: *Cryptosporidium*

Son zamanlarda moleküler araştırmalar *Cryptosporidium* 'un taksonomisi ve türlerinin ayrılmasında faydalı olmuştur (273). Bilhassa PCR-RFLP ve sekans analizi gibi metotlarla türlerin ayrılması gerçekleştirilmektedir (274). PCR metodu kullanılarak özgül gen bölgelerinin artırılması ile parazitin biyolojik nitelikleri ve bulaşma yolu hususunda daha çok bilgi elde edilmiştir. Bu araştırmalar *Cryptosporidium* 'un insanda enfeksiyona sebep olan *Cryptosporidium hominis* ( nceden *C. parvum* tip I veya *C. parvum* insan genotipi olarak adlandırılan) ve *C. parvum* ( nceden *C. parvum* tip II veya sığır genotipi olarak isimlendirilen) olarak iki farklı genotipinin olduğunu ortaya çıkarmıştır (275). *C. hominis* yüksek konak uyumu ve sınırlı sayıda genetik değişkenlik gösterirken, *C. parvum* geniş bir konak spektrumu gösterip, pek çok genotip bulundurmaktadır (275).

1.3.1.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü

İnsan ve hayvanlarda sindirim ve solunum yolu epitel hücrelerinin mikrovillus bölgesine yerleşip bu bölgelerde enfeksiyon meydana getiren *C. parvum*, yerleşim yeri sebebiyle öteki hücre içi parazitlerden ayrılmaktadır. Zira  teki hücre içi parazit türleri hücrenin sitoplazması içerisinde yerleşim göstermektedirler, *C. parvum* hücrenin ekstrasitoplazmik bölgesine yerleşir ve art arda eşeyli ve eşeysiz üreme yaparak çoğalır (276). Gaita ile dışarıya atılan ookistler 2-6  m eninde, kalın duvarlı olup, i lerinde dört sporozoit yer almaktadır. Öteki koksidian parazitlerden ayrı olarak ookistlerinin içerisindeki sporozoitleri sarmalayan sporokistleri mevcuttur (*Cryptosporidium*=gizli sporokist). Sporozoit formları 4,9x1,2  m enindedir. Sporozoitlerden meydana gelen trofozoitler ise 2-2,5  m eninde, yuvarlak ya da oval yapılar şeklinde dirler (277). Parazitin yerleştiği ve konak hücre kaynaklı alana parazitoforoz vaküol denilmektedir. *C. parvum*un hayat siklusu yalnız bir konakta 6 gelişim evresi şeklinde oluşmaktadır. Bu gelişim evreleri; eksistasyon, merogoni, gametogoni, fertilizasyon, ookist dönemi ve sporogoni şeklinde tanımlanmaktadır (278). *Cryptosporidium spp.* zorunlu hücre içi monoksen bir parazittir (279). Yaşam döngüsünü konağın gastrointestinal kanalında, mukozal epitel hücrelerinde tamamlamaktadır (279). Konak dışında geçirdiği tek evre ookist evresidir (271,280). Enfekte konakta görülen 6 evre şöyledir.

1. Eksistasyon

Enfekte konağın gaitasıyla dışarıya atılan ookistlerin oral yolla alınması sonucunda ookistler açılarak sporozoitler dışarı çıkmaktadır. Sporozoitler konak hücreye invazyonda görevli olan roptri, mikronem ve dens granüllerden meydana gelen apikal kompleks ile barsağın apikal yüzeyindeki hücrelere tutunmaktadır (271). Bundan sonraki gelişim evreleri “parazitofor vakuol” içinde geçmektedir (271, 279, 280).

2. Merogoni

Sporozoitler yuvarlak hale dönüşerek bir çekirdekli trofozoit formuna dönüşmektedir. Trofozoit içerisindeki çekirdeğin bölünmesi ile 6-8 çekirdek ve bunların her bir tanesinde 6-8 merozoit oluşmaktadır. Bu merozoitlerin taşınmasını sağlayan hücreye Tip I meront (şizont) adı verilmektedir. Tip I merontlardan meydana gelen merozoitler yeni konak hücrelerini ele geçirerek Tip I ve II merontları oluşturmaktadır (271, 279, 281). Tip I merontlardan köken alan merozoitler konakta yeni hücreleri enfekte eder ve tekrardan bir merogoni başlatmaktadır (281).

3. Gametogoni

Tip II merontlardan meydana gelen merozoitler yeni konak hücrelerinin içine girerek mikrogamont ya da makrogamontun meydana geldiği eşeyli üremeyi (gametogoni) başlatmaktadır (271, 281).

4. Fertilizasyon

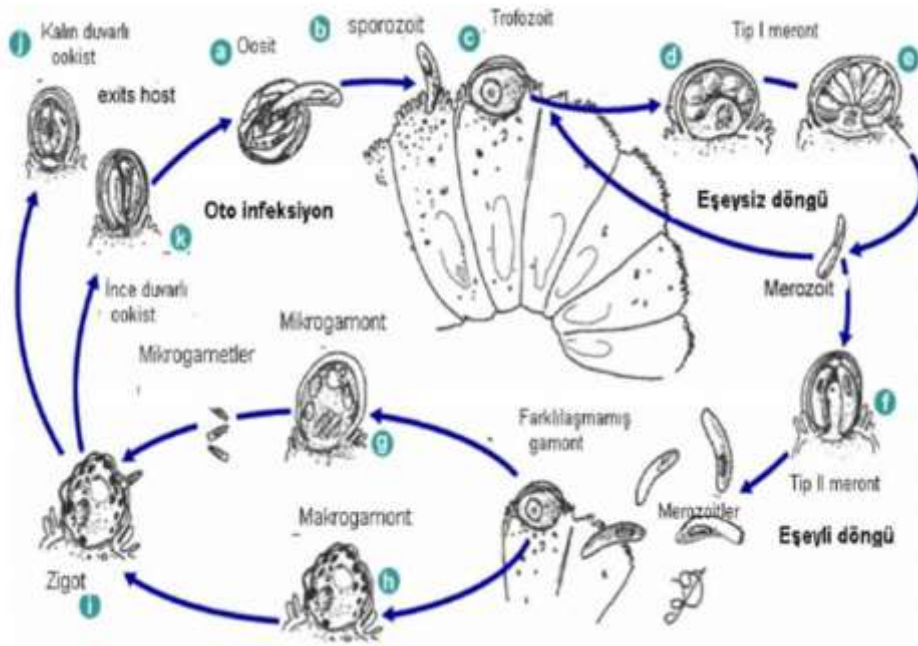
Fertilizasyon esnasında makrogamontların döllenmesinden sorumlu olan mikrogametleri, mikrogametositler oluşturmaktadır (271, 281).

5. Ookist duvar oluşumu

Döllenmiş makrogametler olgunlaşmamış ookistleri oluşturmaktadır (271, 279).

6. Sporogoni

Bu olgunlaşmamış ookistlerin oluşmasıyla, içerisinde enfeksiyon oluşturabilme kabiliyeti olan 4 sporozoit taşıyan olgun ookistler oluşmaktadır (279, 280). Dışkıyla dışarı atılan, içinde 4 sporozoit bulunan kalın duvarlı ookistlerin yeni bir konak tarafından sindirim yoluyla alınması sonucunda enfeksiyon oluşmaktadır (271, 279, 282). İnce duvarlı ookistler otoenfeksiyondan sorumludur (271, 282). Konak hücreden salınmalarından sonra sporozoitlerin çevresini sarmalayan membran rüptüre olarak, açığa invaziv formlar çıkar, öteki enterositlerin mikrovillus bölgelerine girerek yeni bir hayat siklusunu başlatmaktadır (271). *Cryptosporidium*'a ait yaşam döngüsünde ookistlerin gelişim evreleri şematik olarak şekil 4'te gösterilmiştir (283).



Şekil 4. *Cryptosporidium*'a ait yaşam döngüsünde ookistlerin gelişim evreleri (283)

1.3.1.4. Patogenez

Cryptosporidium türleri, sindirim kanalının hemen hemen her kısmında yerleşme yeteneğindedir, ancak en ciddi enfeksiyon, etkenin jejunum kısmına

yerleşmesi sonucunda görülmektedir (283, 284). *Cryptosporidium spp.* nin sebep olduğu enfeksiyonda, patolojik verilerle alakalı yapılmış pek çok araştıma bulunmakla birlikte parazitin hastalık yapma mekanizması henüz net olarak bilinmemektedir (274). Etkenin bağırsak epitelinde görev değişimine sebep olduğu ve aynı seviyede bağırsağa ait aynı yapıyı ve sinir sistemini de etkilediği, çok miktardaki parazit invazyonunun mikrovillüslerde işlev hasarına sebep olduğu belirtilmektedir. Kriptosporidiyozis’de diyarenin sebepleri incelendiğinde; ince bağırsaklarda bulunan enterositlerin ağır hasarı veya ölmesi, bağırsaklarda villüs atrofi ve lamina propriadaki hücresel inflamasyonun rol oynadığı gösterilmiştir. Enfekte olmuş epitelyum hücrelerinden sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-8) salgılanarak inflamatuvar ve bağışıklık sistemi hücrelerini bu kısımda toplamaktadır. Epitel hücrelerinden prostoglandinler (PGE2), inflamasyon hücrelerinden P maddesi gibi noropeptidler salınmaktadır. Bunun sonucunda Na⁺ Emiliminde düşüş, epitelyal permeabilitesinde ve Cl sekresyonunda yükseliş sebebiyle ishal ortaya çıkmaktadır (265, 285). Prostoglandinler Na⁺ azalmasına aracılık ederken Cl sekresyonunu, TNF- α ise prostoglandinlerin üretimini uyarmaktadır (286).

1.3.1.5. Epidemiyoloji

Cryptosporidium ilk olarak 1976 yılında insanlarda gastrointestinal hastalığın bir nedeni olarak tanımlanmıştır. *Cryptosporidium* türleri Antarktika dışındaki her kıtada tanımlanmıştır ve tüm dünyada çocuklar ve yetişkin bireylerde önemli bir ishal nedeni olarak kabul edilmektedir (287). Kriptosporidiyoz salgınları içme sularından, hayvanlarla temasdan, seyahat, yüzme havuzlarından kaynaklanabilir. *Cryptosporidium* üç ana epidemiyolojik olayda etiyolojik ajan olarak tanımlanmıştır (288):

- Sağlıklı insanlarda sporadik, sıklıkla suyla ilişkili kendinden sınırlı ishal salgınları
- Bağışıklığı baskılanmış hastalarda, özellikle HIV enfeksiyonu olanlarda kronik, hayatı tehdit eden hastalık
- Gelişmekte olan ülkelerde küçük çocuklarda ishal ve yetersiz büyüme

Kriptosporidiyoz salgınları dünya çapında görülür; ancak enfeksiyon, kalabalık ve alt yapı eksikliği olan ülkelerde yaygın şekilde izlenir. Örnek olarak, *Cryptosporidium* gelişmiş ülkelerde diyare olan bağışıklığı yeterli hastaların %1 ile 3'ünde, gelişmekte olan ülkelere %7 ile 10'unda mevcuttur (271). *Cryptosporidium* için risk faktörleri;

- Aşırı kalabalık
- Kişiler arası bulaş
- Hayvan teması
- Alt yapı yetersizliği (289).

Her ne kadar *Cryptosporidium* enfeksiyonu bütün yaş gruplarında meydana gelse de, çocuklarda daha sıktır (287). Afrika ve Asya'da yaklaşık 9.500 diyareli çocuğun yer aldığı bir çalışmada, *Cryptosporidium* yaşamın ilk iki yılında orta ile şiddetli diyare hastalıklarından ölümlerin sebebi olarak rotavirüsten sonra ikinci sırada yer almaktadır (287).

Dışkıdan geçen *Cryptosporidium* ookistleri, yutulunca bulaştırıcılığı başlar. *Kriptosporidiyoz*, enfekte olmuş bir kişiden veya hayvandan veya yiyecek veya su kaynağı gibi dışkı ile kontamine olmuş bir ortamdan bulaş ile gerçekleşir (290). *Kriptosporidiyoz* salgınları içme suyu kaynakları, hayvan teması, seyahat, yüzme havuzları ile ilişkilendirilmiştir (291). Endemik bölgelerde yağışlı dönemlerde görülme sıklığı artar (292). *C. hominis* enfeksiyonları genellikle ülkeler arası seyahat ve bakımevi ile ilgili vakalarla ilişkiliyken, *C. parvum* çiftlik hayvanı teması ile ilişkilidir (293).

Sadece birkaç ookistin (10 ile 50 tane) yutulması, özellikle bağışıklık yetersizliği olan hastalarda ciddi hastalığa ve kalıcı enfeksiyona yol açabilir. Önceden kriptosporidiyoz geçirmeyen sağlıklı insanların enfekte olması için *C. parvum* için 132 ookist ve *C. hominis* için 10 ila 83 oosit yutulması yeterlidir; enfekte olmuş bireyler bir milyar oosit atabilirler (294).

Kirlenmiş su; önemli bir enfeksiyon kaynağı, toplum salgınlarına neden olan kirli içme veya yüzme suyudur (294). *Cryptosporidium* ookistleri yüzey sularının %65-97'sinde bulunur ve yok edilmesi zordur, çünkü oositler birçok

dezenfektana (örn. Klor, iyot) karşı dayanıklıdır, birçok filtrasyon sistemi tarafından etkili bir şekilde uzaklaştırılmaz ve aylarca çevrede hayatta kalabilir (295). Bu nedenle, yüzme havuzları, doğal havuzlar ve diğer eğlence su kaynakları önemli enfeksiyon kaynaklarıdır. Ookistler musluk suyunda aralıklı olarak da tespit edilebilir (296).

Gıda kaynaklı bulaşma; gıda kaynaklı salgınlar, su kaynaklı salgınlardan daha az yaygındır, ancak genellikle kontamine gıdalardan bildirilmektedir (297).

Kişiden kişiye; özellikle aile üyeleri, cinsel partnerler, kreşlerdeki çocuklar ve bakıcıları ile sağlık çalışanları arasında kişiden kişiye bulaşma yaygındır (298). Brezilya'da yapılan bir çalışmada, kriptosporidiyozisli vakalarının aile üyelerinin %19'unda akut enfeksiyon gelişmiştir (299). Hem semptomatik hem de asemptomatik enfeksiyonlar sekonder bulaşmaya katkıda bulunabilir. Bir çalışmada, New York'taki bir kreşte asemptomatik çocukların %27'sinde *Cryptosporidium* ookistleri tespit edilmiştir (300).

Veterinerlikle bulaşma; çeşitli hayvanlar *Cryptosporidium* türlerini barındırabilir ve hayvanlardan dışkı yoluyla geçirilmiş ookistlere maruz kalma, insan enfeksiyonlarına neden olabilir (301).

Solunum; *Cryptosporidium*'un solunum yolundan bulaşıp bulaşmadığı belirsizdir (302).

1.3.1.6. Klinik

Sağlıklı kişilerde asemptomatik enfeksiyon görülebilir (303). *Cryptosporidium* asemptomatik enfeksiyona, hafif ishale veya safra yollarında veya safra yolu tutulumu olmaksızın şiddetli enterite neden olabilir. Akciğer tutulumu da tanımlanmıştır. Çocukluk çağı enfeksiyonlarının %30 kadarı asemptomatiktir (304). *Cryptosporidium*, malabsorpsiyon ile ilişkili olabilen diyareye neden olur. Dışkıda kan veya lökositler görülmesi, başka bir enterik patojenle koenfeksiyon olmadığı sürece nadirdir. Yutulan ookist sayısının enfeksiyon zamanı ve süresiyle alakalı olduğu bililmektedir, ancak hastalığın şiddeti ile ilişkili görünmemektedir (305).

●**Kuluçka dönemi:** Semptom gelişen hastalarda kuluçka süresi genellikle 7 ile 10 gündür.

●**Belirti ve bulgular:** Kriptosporidiyozis ile ilişkili ishal akut ya da kronik olabilmektedir; ve 25 L/güne kadar sulu dışkı ile karakterize olabilir. İshal gelişen hastalarda sık sık halsizlik, bulantı ve iştah kaybı, kramp karın ağrısı ve düşük dereceli ateş görülmektedir. Yaşlı hastalarda enfeksiyon şiddetli sıvı kaybı ile birlikte yüksek vaka ölüm oranlarına neden olmuştur (306). İmmün sistemi baskılanmış konakçılarda (özellikle T hücresi immün yetmezliği olanlarda), hastalık daha uzun sürer ve şiddetlidir (307).

●**Hastalık seyri:** Hastalık, immünolojik olarak sağlıklı kişilerde çoğunlukla 10 ile 14 gün içerisinde tedavi olmaksızın düzelir. Klinik semptomların düzelmesinden sonra oositlerin atılımı uzun süre devam edebilir (308).

Kriptosporidiyoz, immün sistemi baskılanmış konakçılarda (özellikle T hücresi immün yetmezliği olanlarda) kalıcı ishale neden olabilir (309). Fulminan hastalık sadece CD4 sayısı <50 hücre/mikroL olanlarda gelişmiştir. Pulmoner tutulum da tanımlanmıştır, ancak organizmanın gerçek bir patojen olup olmadığı veya sadece solunum sistemini kolonize ettiği kesin değildir. Öksürük dahil spesifik olmayan solunum semptomları bildirilmiştir (310).

Yaygın kriptosporidiyoz tanımlanmamıştır. Bazı hastalar akut enfeksiyonun düzelmesinden sonra belirtiler göstermeye devam edebilir. Örnek olarak, akut *C. parvum* enfeksiyonu sonrası karın ağrısı (%38), ishal (%33), eklem ağrısı (%33), kilo kaybı (%31) irritabl bağırsak sendromu (%28), yorgunluk (%22) ve göz ağrısı (%9) ile uyumlu semptomların devam ettiği bildirilmiştir (311).

Kronik ishali hastalarda ciddi kilo kaybı gelişebilir. Ek olarak, immün sistemi baskılanmamış bebeklerde *Cryptosporidium* enfeksiyonunun sürekli diyare ve/veya beslenme durumu ve büyüme üzerinde kalıcı yan etkilere sebep olabileceğine dair birtakım kanıtlar bulunmaktadır (312).

1.3.1.7. Tanı

Cryptosporidium enfeksiyonunun tespit edilmesinde kullanılan metotlar aşağıda belirtilmiştir (313).

1. Direkt tanı yöntemleri:

- a. Mikroskopik tanı
- b. Moleküler tanı

2. İndirekt tanı yöntemleri:

- a. Enzyme Linked Immun assay (ELISA)
- b. İndirekt floresan antikor (IFA)

3. Histopatolojik tanı yöntemleri.

1.3.1.7.1. Direkt Tanı Yöntemleri

1.3.1.7.1.1. Mikroskopik Tanı

Gaita örnekleri basit boya metotlarıyla, faz kontrast ve karanlık alan mikroskopisi, floresan mikroskobu ile incelenmektedir (279, 314, 315). Gaitanın mikroskopik irdelenmesi pratik ve maliyeti az olan metot olması sebebiyle tanıda sık bir şekilde kullanılmaktadır (279). Kriptosporidiyozda ookist atılımı çoğunlukla aralıklarla olduğundan, ayrı dönemlerde alınan fazla sayıdaki dışkı örneğinin incelenmesi tanı için son derece önem taşımaktadır (279).

Dışkı Örneklerinin Saklanma Yöntemleri:

Canlı parazit üzerinde çalışan laboratuvar çalışanlarının enfekte olabilme tehlikesinin olabilmesi sebebiyle fikse edilmiş örneğin asit fast boya metotlarıyla irdelenmesi daha makuldur (284, 314). Çoğunlukla gaita örnekleri %10 formalin ile süspansiyon şeklinde muhafaza edilmelidir. Sodyum asetoasetik asit formalin (SAF) ve potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) da boyama metotlarını etkilemediğinden sıkça kullanılan saklama metotlarıdır (281). Polivinil alkol, boya metotlarıyla uyumsuzluk gösterdiğinden tavsiye edilmemektedir (284, 314).

Dışkı Örneklerini Çoklaştırma (konsantrasyon) Yöntemleri:

Dışkı incelenmesinde çoklaştırma metotlarının en kayda değer avantajı direkt yaymadan hazırlanan kalıcı boyalı preparatlarda gözden kaçırılacak nadir ookistleri ortaya koymasındır (297, 316). Etkenin klinik örnekler ve kontamine sulardan tespit edilebilmesi için kullanılan ana çoklaştırma (konsantrasyon) metotları şunlardır; formalin-eter ve formalin-etil asetat sedimentasyon metotları, Sheather'in şekerli yüzdürme metodu, Percoll-sukroz metodu, doymuş çinko sülfat ve doymuş sodyum klorür yüzdürme metotları, demir III sülfat yüzdürme metodu ve cam boncuklarla ayırıştırma (immünomanyetik separasyon=IMS). Formalin-eter ve formalin-etil asetat sedimentasyonu ile Sheather'in şekerli yüzdürme metodu en yaygın kullanılan metotlardır (279, 284, 313, 314). *Cryptosporidium* ookistleri için çöktürme metodunda 1000-1500 rpm'de 2 dakika santrifüj yapılmaktadır (279, 286, 313). İmmünomanyetik cam boncuklar dışkıdan parazitin izole edilmesi ve konsantre edilmesinde son derece duyarlı bir metottur (284, 314). Sudaki ookistlerin tespit edilmesinde filtre temeline dayanan çoklaştırma metotları sıkça kullanılmaktadır (315).

Basit Boya Yöntemleri:

Öteki protozoonların irdelenmesinde kullanılan boyama metotları *Cryptosporidium* tespitinde kullanılamamaktadır (279, 295). Ookistlerin tespit edilmesinde Kinyoun asit fast, modifiye asit fast sıcak boyama, giemsa, safraninmetilen mavisi (SMB), nigrosin, karbol fuksin boyama metotları kullanılmaktadır (279, 281). Ookistleri mantarlardan ayırmak gayesiyle en yaygın başvurulmuş, güvenilir, özgül ve tanısal değeri fazla olan metot asit fast boyama metodudur (313). Bu metotla ookistler pembe ya da kırmızı renkte, mayalar ve gaita artıkları ise yeşil ya da mavi renkte boyanmaktadır (284, 314, 315). İrritan madde bulundurması sebebiyle havalandırma sistemi uygun olmayan laboratuvarlarda modifiye asit fast sıcak boyamanın yerine Kinyoun asit fast metodu önerilmektedir (284, 298, 315). SMB boya metoduyla ookistler mavi zemin üzerinde pembe boyanmaktadır (315). Karbol fuksin boya metodunda zemin kırmızı renkte görülürken, ookistler ışık kırıcı nitelikte, düzgün duvarlı oval yapılar şeklinde görülmektedir (317).

Faz Kontrast ve Karanlık Alan Mikroskopisi:

Serum fizyolojik ile hazırlanan yeni preparatların ya da yüzdürme metoduyla çoklaştırılan gaita örneklerinin faz kontrast ya da karanlık alan mikroskopisi ile irdelenmesiyle ookistler tespit edilebilmektedir (295).

Floresan Mikroskopisi:

Ookistlerin tespit edilmesinde Auramin-rhodamine (AR), Acridine orange (AO), Auraminfenol (AF) gibi floresan boya metotları sıkça kullanılmaktadır (279, 281). AR boya metodu hücre duvarındaki mikolik aside afinite gösteren bir boyadır. *Cryptosporidium* ookistleri bu metotla kırmızı zemin üstünde parlak sarı renkte gözlenmekte, böylece ookistlerin maya ve mantarlardan ayırt edilmesi rahatlıkla yapılmaktadır. AO boyama metodunda mantarlar kırmızı-turuncu renkle boyanırken, ookistler sarı-yeşil renkte boyanmaktadır (313). AF boyama metodu yoluyla, ookistler siyah zeminde floresan renk vererek kolaylıkla tespit edilebilmektedir (315).

Diğer örnekler:

İmmün sistemi baskılanmış hasta kişilerde enfeksiyon safra kesesi, biliyer sistem, pankreas, solunum yolları gibi ekstraintestinal organlara da dağılmaktadır (318). Bu ekstraintestinal organlardan alınan biyopsi materyallerinin histolojik incelenmesi ya da balgam, trakeal aspirasyon sıvısı ve bronkoalveoler lavaj sıvısından hazırlanan preparatların boyama metotları ile incelenmesi sonucunda *Cryptosporidium* ookistlerinin tespit edilmeleri mümkündür (319). Fakat bu metotların yalnız başlarına kullanımı tanı için yeterli gelmemektedir (281).

1.3.1.7.1.2. Moleküler Tanı

Moleküler araştırmalar *Cryptosporidium*'un taksonomisine ve türlerinin birbirinden ayırt edilmesine önemli derecede destekler sağlamıştır (288, 290). PCR klinik örnekler ve çevresel kaynaklardan *Cryptosporidium* türlerinin tespit edilmesi için sıkça kullanılmaktadır (279). Bu metot parazit DNA'sının tespit edilmesi esasına dayanmaktadır. Metodun duyarlılığı gaitanın mikroskopik olarak incelenmesine kıyasla çok yüksektir (284, 314). Donmuş, kötü şartlarda muhafaza edilmiş ya da içinde sınırlı sayıda etken bulunan dışkı örnekleri için en uygun tanı metodu olarak kabul görmektedir. Tür ayrımının yapılmasına olanak sağladığından

bilhassa pandemilerde etkili olan türün saptanabilmesi mümkün olabilmektedir (279). Hızlı ve duyarlılığı yüksek bir metot olmasına rağmen birtakım sınırlılıkları da bulunmaktadır. Bilhassa laboratuvar kaynaklı kontaminasyonlarla ilişkili yalancı pozitif sonuçlar verebildiği belirtilmektedir (315). DNA izolasyonu için uygun bir ekstraksiyon metodunun uygulanması gerekmektedir. Yaygın şekilde yararlanılan fenol-kloroform ekstraksiyon metodu ve gaitada bulunan safra tuzları, bilirubin, karmaşık polisakkaritler gibi komponentler PCR metodunu engelleyebilmektedir. Bu sebeple inhibitör özelliği gösteren bu yapıların ortadan kaldırılması gereklidir (302). Son zamanlarda PCR teknolojilerinin ilerlemesi ile beraber klinik örneklerdeki bütün inhibitörlerin ortadan kaldırılmasını sağlayan DNA izolasyonu kitlerinin üretilmesi, PCR'ın sınırlayıcı etkenlerinin ortadan kaldırılmasında yardımcı olmuştur. Çağımızda izole edilen etkenin türü, canlılığı ve enfekte etme seviyelerinin tespit edilmesi için geliştirilmiş değişik PCR metotları bulunmaktadır. Bunlar içerisinde en yagın kullanılan PCR metoduyla üretilen uzun bir genom parçasının uygun enzimlerle bölündükten sonra, bölünen bölgelerinin jelde yürütülerek hangi gen bölgesinin daha uzun olduğunu saptayıp etkenin genetik analizinin değerlendirilebilmesini sağlayan PCR-RFLP metottur (320). Bununla beraber PCR ile uzun bir baz bölgesinin üretilip takiben o bölge içindeki küçük belli alanlara yönelik primerler eklenerek tekrar PCR ile o kısımların üretildiği, klasik PCR'a göre 4-5 kat daha etkili olan nested-PCR (321), üretilen hedef DNA miktarını, dolayısıyla ortamdaki etken sayısını tespit edebilen özel işaretli hibridizasyon problemleri kullanılarak yapılan Real-Time PCR (322), özel TaqMan problemlerinin kullanıldığı ve Real-Time PCR'a benzeyen TaqMan PCR ve bilhassa suşların ayırt edilmesinde kullanılan arbitrary primed PCR (AP-PCR) gibi moleküler metotlar da kullanılmaktadır (323).

Kriptosporidiyozun PCR metoduyla tespit edilebilmesi için 70-kDa ısı şok proteini (hsp 70 mRNA) geni (324), ribozomun küçük alt birimine ait RNA'yı kodlayan bölge (18s SSU rRNA) geni, β tubulin kodlayan mRNA geni, amiloglikozidaz enzimini kodlayan mRNA geni, methionin aminopeptidaz, T-kompleks protein 1 delta (TCP-1) içeren chaperonin kodlayan genler (325), *Cryptosporidium* ookist duvar proteini (COWP), *Cryptosporidium*-1 geninin Thrombospondin-related adhesive proteini (TRAP-C1), *Cryptosporidium*-2

geninin Thrombospondin-related adhesive proteini (TRAP-C2) genleri kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde en duyarlı gen bölgesinin 18 S rRNA geni olduğu belirtilmiştir (326). Ribosomal internal transcribed spacer (ITS rDNA) bölgeleri COWP, dihidrofolat redüktaz-timidilat sentaz (dhfr-ts), TRAP-C1, TRAP-C2 ve HSP70 gibi genlerin sekans analizi, RFLP analizi gibi metotlar *Cryptosporidium* türlerinin ayırt edilmesinde en yaygın kullanılan metotlardır (287, 291).

1.3.1.7.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

1.3.1.7.2.1. Serumda Antikor Aranmasında Kullanılan Yöntemler

İndirekt metotlar kullanılarak *Cryptosporidium* ookistlerine duyarlı antikorların varlığı incelenmektedir (318). Bu metotlar içerisinde ELISA, IFA ve Western blot (WB) yer almaktadır (315, 317).

Monoklonal antikorlarla gerçekleştirilen IFA'nın duyarlılığının %100 olduğu ve boyama metotlarından 20 kat daha fazla duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bunla birlikte serumda *Cryptosporidium spp.*ye özgül antikorların tespit edilmesi için kullanılan IFA'nın, gaitada ookist tespit etme metotlarıyla kombine edilmesi halinde kriptosporidiyoz prevalansının daha doğru şekilde saptanabileceği belirtilmektedir. Başka bir serolojik metot olan WB ile enfeksiyon başladıktan sonraki 10. günde serumda 27 kDa molekül ağırlığındaki antijenin tespit edilebileceği, enfeksiyonun 3 ila 4. haftalarında pik yaptığı, 4-5. aylarında ise yok olduğu gözlemlenmiştir (327).

1.3.1.7.2.2. Dışkıda Kriptosporodiyal Antijen Aranmasında Kullanılan Yöntemler

Ookist antijenlerine yönelik monoklonal antikorların kullanıldığı immüno Floresan ve ELISA metotları, gaitadaki ookistlerin tespit edilmesinde son derece duyarlı metotlardır (315, 318). Fakat antijenlerin çapraz tepkime vermesi ELISA metodunda yalancı pozitifliğe sebep olmaktadır (315). ELISA ve immünokromatografi esasına dayanan ticari kitler geliştirilmiştir (296, 314). Gaitadaki ookist sayısını saptayan flowsitometri günümüzde floresan antikor

metoduyla berabere kullanılmakta ve atılan ookist sayısının ölçümünde immünofloresan metotlardan daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (315, 323).

Gaita örneklerinden *Cryptosporidium* ookistlerinin tespit edilmesinde kullanılan ELISA metodunun temeli; yapılan antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin eklenmesi ve daha sonra substratın ilave edilmesi ile antijen bulunması durumunda renk oluşumunun görülmesidir. Kimyasal bir olay olan renk değişimi enzim aktivitesiyle alakalıdır (328).

ELISA metodu hem seri şekilde hem de rahatça uygulanabilmesi, yüksek duyarlılığa sahip olması, kullanılan reaktiflerin uzun süre muhafaza edilmesi, fazla miktarda örneğin çalışılabilmesi, sonuçların spektrofotometrede objektif şekilde değerlendirilebilmesi gibi pek çok avantaja sahip olması sebebiyle parazitolojide sıkça kullanılmaktadır (328). Ancak gaitada *Cryptosporidium* ookistlerinin saptanmasında kullanılabilecek uygun bir cihaza gereksinim duyulması ve maliyetinin yüksek olması nedeniyle bu metodun kullanımı kısmen sınırlanmıştır (328).

İmmünokromatografik metotların duyarlılığı ve spesifikliği ELISA metoduna kıyasla daha düşüktür (328). Bebeklerde ve altta yatan bağırsak hastalığı olan kişilerde yanlış pozitiflik görülebilmektedir (328). Son zamanlarda gittikçe daha fazla kullanılan immünokromatografik metotla elde edilen verilerin ELISA metoduyla uyumlu olması, 5-10 dakika gibi kısa zamanda sonuç verebilmesi, az miktardaki dışkı örneğiyle rahat bir biçimde çalışılabilmesi ve duyarlılığın yüksek olması (%93-100) gibi sebeplerden dolayı immünokromatografik metot daha çok kullanılmaktadır (328).

1.3.1.7.3. Histopatolojik Tanı

Parazit barsak mukoza epitel hücrelerinin mikrovillus yüzeyinde yerleştiği için biyopsi materyalinin ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmesi tanı için son derece önem taşımaktadır (313, 315, 318, 319). Hematoksilen eozin ile parazit mor renkte boyanmaktadır (284). Biyopsi metotları dokuda bulunan parazitin saptanmasında faydalı olmakla beraber, biyopsi alınan alanda parazitin bulunmaması yalancı negatif sonuçlara neden olabilir (313, 317, 319).

1.3.1.8. Tedavi

Destek tedavisi; Rehidratasyon ve nutrisyonel desteği kapsayan spesifik olmayan destek tedavi kriptosporidiyozis klinik sonuçlarının kontrol edilmesinde önemlidir (286, 287, 329).

Antimotiliter ajanlar; Loperamid ya da difeksilat/atropin ile tedavi sonucu dışkılama sayısının azaldığı belirtilmektedir. Opiatlar ağır enfeksiyonda gaitanın bağırsaktan geçiş süresini azaltmaktadır (329). Somatostatin, morfin sülfat gibi antidiyareik ajanlar sıvı kaybının kontrol altında tutulmasına yardımcı olmaktadır (286).

Kemoterapötik ajanlar; İmmün sistemi baskılanmış kişilerde hayatı tehdit eden uzun süreli enfeksiyonlara sebep olduğundan etkili bir kemoterapötik ajan ile tedaviye gereksinim duyulmaktadır (286). Yüzlerce kimyasal ve immünoterapötik ajan ile in vivo, in vitro, hayvan deneyleri ve klinik araştırmalar gerçekleştirilmesine rağmen halen özgül ya da koruyucu tedavi bulunamamıştır (287, 329). Aminoglikozid grubundan olan paramomisin en yaygın uygulanan ajandır (290). Nitazoksanid (NTZ) kronik ve ağır ishal yakınması olan bütün hasta kişilere tavsiye edilmektedir (287). Son yıllarda makrolidlerin (spiramisin, azitromisin, klaritromisin) de enfeksiyonu sınırlamada etkili olduğu bildirilmiştir (291). İmmün sistem yetmezliği olan vakalarda diloksanid furoat, furazolin, spiramisin, kininle güçlendirilmiş klindamisin ve interlökin-2 ile başarılı sonuçlar alındığını rapor eden araştırmalar bulunmaktadır (300).

İmmün sistemi baskılanmış kişilerde antiretroviral tedavi ile viral yükün azaltılması ve CD4 miktarının artması, klinik belirtilerde hızlı düzelme ile beraber ookist atılımının düşürülmesine de olanak sağlamaktadır (290). Bilhassa proteaz inhibitörleri kullanılarak uygulanan yüksek etkili antiretroviral tedavi (HAART) kriptosporidiyozisin intestinal klinik bulgularının gerilemesinde etkili olduğu belirtilmektedir (291).

İmmünoterapi; *C. parvum* yüzey proteini bulunduran hiperimmün serum ve hiperimmün bovin kolostrum ile pasif immünoterapi gibi diğer tedaviler de uygulanmaktadır (287). Probiyotik kullanılması da ookist miktarını ve ookist atılım

süresini düşürmektedir. Hücresel immünitenin ehemmiyetinin bilinmesine ve saptanmış antijenlerle koruyucu immün cevabın uyarılmasına rağmen, tedaviye yönelik immünoterapötik ya da aşı halen bulunamamıştır (287).

1.3.1.9. Korunma

İnsan ve hayvan gaitasındaki ookistlerin etrafa dağılması engellenmelidir. Ookistlerin oda ısısında 2-6 ay kadar canlı kalabildikleri ve 65°C'nin üzerindeki sıcak sularda 30 dakikada, hangi derecede olması fark etmeksizin suda 1 dakikada öldükleri göz ardı edilmemelidir. Her ne kadar 20°C'nin altındaki sularda 30 dakikada ookistlerin öldüğü belirtilmişse de, son araştırmalar ookistlerin donmaya zannettiğimizden daha dirençli olduğunu bildirmiştir. %5,25 sodyum hipokloritli çamaşır suyunda 30 dakikada ölmektedirler; ancak 5 defa sulandırılmış çamaşır suyu buz banyosunda 12 dakika hasar görmedikleri bildirilmiştir. İçme sularının rutin klorlanmasının yeterli olmadığı belirtilmektedir (330).

Hijyene dikkat edilmesi, insandan insana bulaşmayı, bununla beraber hayvandan insana bulaşma oranını da düşürmektedir; zira ev içinde bulaşmanın ikincil vakaların %50'sinden sorumlu olduğu belirtilmektedir. Tuvaletten çıktıktan sonra ve ishalleri hayvanlara temastan sonra ellerin iyice yıkanılmasına özen gösterilmelidir. İshalleri bireyler havuz ve deniz benzeri herhangi bir eğlence sularına girmemelidir. Kontamine olmuş suların içilmesinden sakınılmalıdır. Yüzme havuzları güvenlik açısından devamlı olarak kontrol edilmelidir. Uluslararası seyahat esnasında yiyecek ve içeceklerin güvenilirliğine özen gösterilmelidir. Gıdalar iyice pişirilmeli ve sular klorlandıktan sonra içilmelidir. İmmün sistemi baskılanmış bireylerin enfeksiyona yakalanma tehlikesini düşürmek için içme sularını kaynatmaları tavsiye edilmektedir. Tehlikeli cinsel ilişkiden sakınılmalı ya da önlem alınmalıdır (330).

1.3.2. Giardia İntestinalis

Giardia intestinalis (*G. lamblia* veya *G. duodenalis* olarak da bilinir), sporadik veya epidemik diyare hastalığına neden olabilen bir protozoon parazittir. Giardiyazis, su ve gıda kaynaklı hastalıkların, bakım merkezi salgınlarının ve uluslararası seyahat edenlerin hastalığının önemli bir nedenidir (331).

1.3.2.1. Tarihçe

Giardia intestinalis ilk defa 1681' de Hollandalı bilim insanı Antony Van Leewenhoek (332) kendi gaitasından hazırladığı örnekte görmüş ve *G. intestinalis* “ Royal Society of London” a gönderdiği raporda belirtmiştir.

1.3.2.2. Sınıflandırma

Giardia cinsi; insanlarda, vahşi ve evcil hayvanlarda sıkça rastlanan bir bağırsak parazitidir (332). İnsanda enfeksiyon sebebi olan tür için literatürlerde, *G. intestinalis*, *G. duodenalis* ve *G. lamblia* olarak üç ayrı tür ismi kullanılmaktadır, üçü de aynı türü ifade eder (331). Çalışmamızda *G. intestinalis* adı kullanılmıştır. *G. intestinalis*in bulunduğu *Zoomastigophora* sınıfının *Diplomonadida* takımındaki protozoonlarda 4 çift kamçı bulunmaktadır. Hexamitidae familyasındaki türlerden insanlarda hastalık oluşturabilen ve sindirim sisteminde varlık gösteren tek tür *G. intestinalis*dir (333).

Taksonomi:

Şube: *Sarcomastigophora*

Altşube: *Mastigophora*

Sınıf: *Zoomastigophora*

Takım: *Diplomonadida*

Aile: *Hexamitidae*

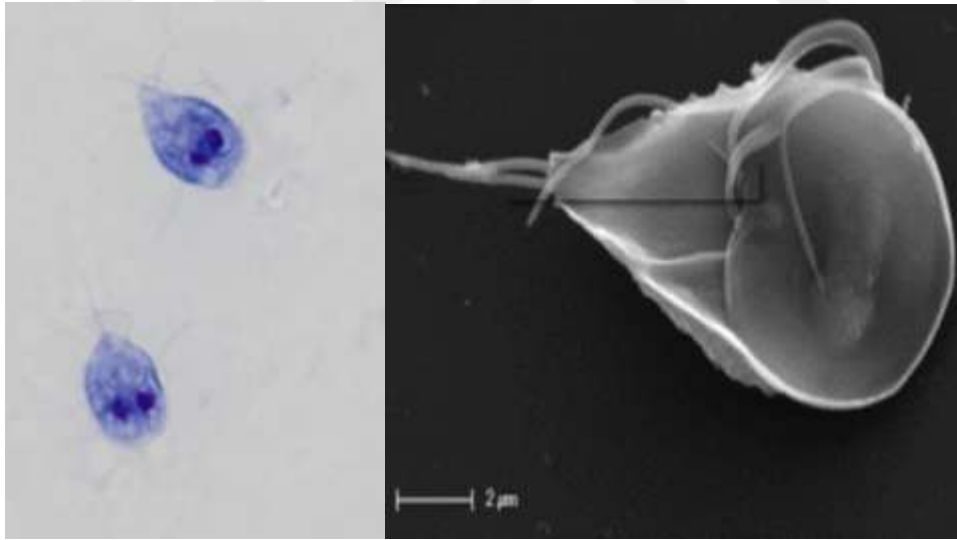
Cins: *Giardia*

Tür: *Giardia intestinalis*

1.3.2.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü

Giardia türlerinin iki morfolojik formu mevcuttur; kistler ve trofozoitler. Kistler parazitin bulaşıcı şeklidir; dışkıyla atılmakta olup ve nemli ortamlarda uzun zaman yaşamını sürdürebilmektedirler. Kist yutulduktan sonra, trofozoitlerin salınması ile proksimal ince bağırsakta ekskistasyon meydana gelir.

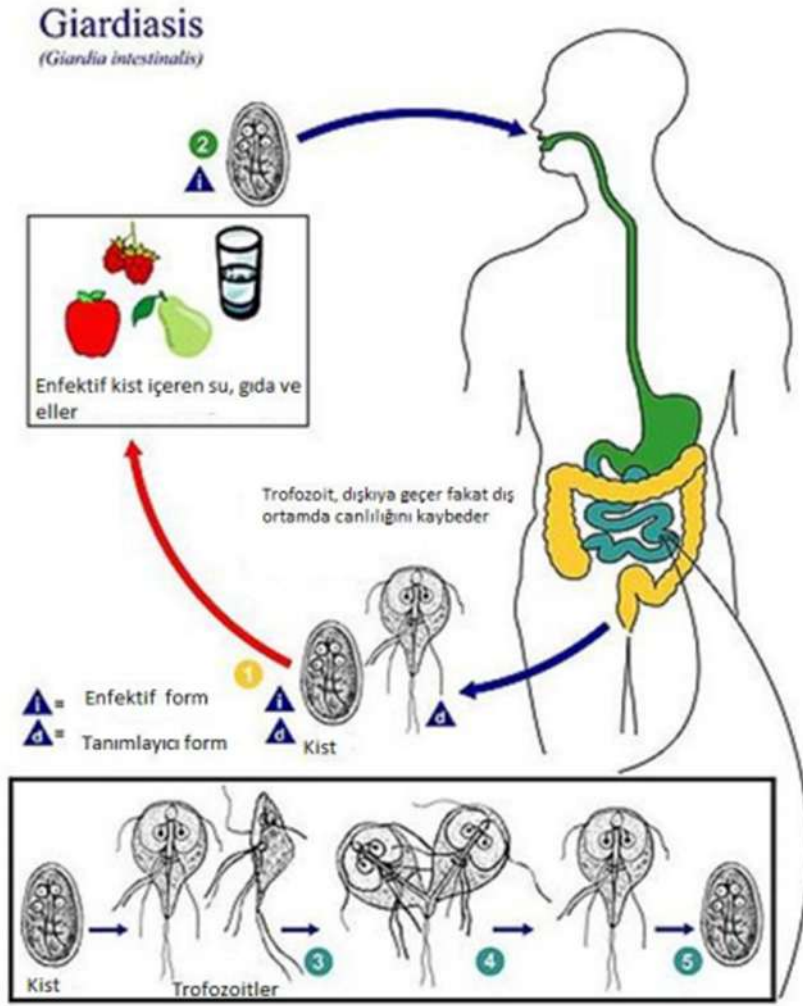
Trofozoitler, ikili füzyonla bölünebilen armut biçimli, binükleotid, çok-kamçılı parazit formlarıdır; esas olarak proksimal ince bağırsağa yerleşirler. Trofozoitin ventral yüzeyindeki yapışkan bir disk, duodenum ve jejunumun mukoza yüzeyine trofozoit bağlanmasını kolaylaştırır, ancak trofozoit mukozal epitelyumu istila etmez. Trofozoitlerin mikroskobik ve elektron mikroskobik görünümü şekil 5'te gösterilmiştir. İnce bağırsağa yapışmayan trofozoitler, bulaşıcı kist formuna geri döndükleri kalın bağırsağa ilerler; konjuge safra tuzları, trofozoitlerin toplanmasını sağlar. Kistler atılan dışkıda çevreye geri aktarılır; ishal durumunda, dışkıda trofozoitler de bulunabilir. Kist yutulduktan sonra, akut giardiyaz belirtileri gelişmeden önce enfeksiyonların bir hafta veya daha fazla inkübasyon süresi vardır (334).



Şekil 5. *Giardia intestinalis* trofozoidinin mikroskobik ve elektron mikroskobik görünümü (334)

Giardia 'nın hayat döngüsünün; dışkıyla atılan kistlerin uygun bir konak vasıtasıyla, oral yoldan gıda ve çeşitli içeceklerle alınması sonucu konak omurgalının ince bağırsağında başladığı bildirilmektedir. Konak içinde mide asiditesinin de etkisiyle kist duvarının bölünerek trofozoitin meydana gelmesinin

enkistasyon olarak adlandırıldığı ifade edilmektedir. Trofozoit formunun dahil olduğu omurgalı konağın ince bağırsak mukozasına yapışmasını kolaylaştıran yapının emici disk olduğu belirtilmektedir. Parazitin birtakım yüzey moleküllerinin (alfa, beta, delta, gama giardinler gibi) bu iyice yapışmada etkin olduğu belirtilmektedir. Emici disk aracılığıyla mukozaya yapışan trofozoitlerin nükleusunun burda ikiye ayrıldığı ve trofozoitin tekrar yapışma sürecine başladığı, sonuç olarak çok fazla miktarda trofozoitin, konak omurgalının ince bağırsak mukozasına tutunmuş halde hayatlarını sürdürdükleri belirtilmektedir. Bu trofozoitlerden bir bölümünün bağırsak peristaltizminin etkisi ile intestinal epitelden ayrılıp dışkıyla atıldığı belirtilmektedir. Zaman alıcı bir süreç olan parazitin trofozoit formundan kist formuna dönüşümünün konak olan omurgalının ince bağırsağında gerçekleştiği bildirilmektedir. Gaita şekilsiz ve sıvı iken, gaita örneklerinde daha çok trofozoit formun gözlemlendiği belirtilmektedir. Bunun nedeninin bağırsak içeriğinin bağırsakta durma evresinin kısa olması olup, parazitin trofozoit şeklinden kist şekline geçişi için ihtiyaç duyulan süre kadar ince bağırsak lümeninde durmaması olduğu bildirilmiştir. Parazitin iki nükleuslu trofozoit formunun, iki nükleuslu kist formuna dönüşümünün enkistasyon olarak isimlendirildiği belirtilmektedir. Daha sonra bu iki nükleusun da ikiye ayrılarak dört nükleuslu kist formunun meydana geldiği belirtilmektedir. Parazitin kist formunun ise daha çok şekilli dışkı örneklerinde görüldüğü belirtilmektedir (334). *G. intestinalis*in dışkı yoluyla dış ortama salınıp giardiasis oluşumuna ait yaşam döngüsü ve trofozit kistinin çoğalma evreleri şekil 6'da şematik olarak gösterilmiştir (335).



Şekil 6. *Giardia intestinalis*'in yaşam döngüsü (335)

1.3.2.4. Patogenez

Kamçılarıyla hareket eden *Giardia* trofozoitlerinin emici diskleri ile ince bağırsağın yukarı bölümünde epitel hücrelerine kuvvetli bir şekilde tutunduğu belirtilmektedir. Bu kuvvetli tutunmada giardinler gibi birtakım parazit yüzey proteinlerinin rol oynadığı belirtilmektedir. *Giardia* trofozoitleri ile intestinal epitel hücrelerinin bu etkileşiminin diyare gelişimine sebep olan pek çok durumu tetiklediği bildirilmektedir. Bu durumların enterosit apoptozisi, ince bağırsak bariyer disfonksiyonu, konak lenfositlerinin aktive edilmesi, mikrovillusların boyunun kısalması ya da atrofisi, disakkaridaz yetersizliği, ince bağırsak malabsorbsyonu, anyon hipersekresyonu, ve bağırsak pasaj hızı artışı şeklinde sıralandığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda trofozoitlerin enterositlerin

apoptozisini uyarması, *Giardia* infeksiyonunun patogenezinde kilit rol oynadığı gösterilmiştir. Trofozoitlerin kimi zaman bağırsak salgı bezleri içerisine penetre olabildiği, kimi zaman da duodenumdan safra kanallarına geçip, safra kanallarında da gözlenebildiği belirtilmektedir (336-338).

Giardia intestinalis trofozoitlerinin %7 gliserol içerisinde -70°C'de iki yıl canlı kalabildikleri bildirilmiştir. Kistlerin sularda ortam sıcaklığına bağlı olarak 8°C'de iki ay, 2 °C'de 5-24 gün, 37°C'de 4 gün yaşayabildikleri bildirilmiştir. %0,5 klorlu suda 2-3 gün yaşamını devam ettirdiği belirtilmektedir. Dışkıyla beraber sinekler vasıtasıyla alınan *G. intestinalis* kistlerinin sineklerin bağırsaklarında 1 gün boyunca yaşamlarını sürdürdükleri bildirilmiştir. Kistlerin 65°C'de 2 dakikada öldüğü, dondurma ve çözündürme işlemlerinin ise %99'dan fazla öldürücü etki yaptığı belirtilmektedir. *G. intestinalis* trofozoitlerinin büyüebilmeleri, olgunlaşabilmeleri ve çoğalabilmeleri için enerji kaynağı olarak mutlaka glikoza gereksinim duyduğu belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar arjinin ve alanin başta olmak üzere pek çok aminoasidin, *Giardia*'nın besiyerinde üremesinde enerji metabolizmasına dahil olduğunu belirtmektedir (337).

Giardia intestinalis bulaşının kist içeren besin ya da suların oral yolla alınması aracılığıyla olduğu belirtilmektedir. *G. intestinalis* kistlerinin mideyi geçtikten sonra ince bağırsakların alkalen ortamında trofozoit forma dönüştüğü bildirilmektedir. *G. intestinalis* trofozoitlerinin duodenum, jejunum ve ileumun üst kısmı ile ender olarak safra kesesi ya da safra yollarının epitel yüzeylerinde tutunduğu belirtilmektedir. Giyardiya'da ortaya çıkan diyare ve steatoreni patogenezi net şekilde bilinmemekle beraber, bunu açıklayabilecek birtakım mekanizmalar ortaya atılmaktadır. Bunların; intestinal epitel hücrelerinin apoptozisinde yükselme, mukozanın ve mukozal epiteldeki kanalların çok fazla miktarda parazit tarafından mekanik olarak tıkanması; fırça epiteli ve mikrovillus yapısında bozulma; yağ emilimi için gerekli bağırsak içi komponentlerin bozulması; parazitin ve konağın besin için yarışmaya girmesi; artan mukus sekresyonu; parazitin salgıladığı bir toksinin bağırsaklar üzerine etkisi olabileceği belirtilmektedir (338-340). Fakat bugün için *G. intestinalis* ince bağırsak mukozasında tahribata sebep olduğu görüşünün öne çıktığı bildirilmektedir. İnce bağırsak biyopsilerinin ışık mikroskopunda yapılan incelemelerinde, villuslarda

parsiyel atrofiden subtotal atrofiye kadar değişiklik gözleendiği, bu duruma mukozada inflamasyon ve intraepitelyal lenfosit sayısının artmasının da eşlik ettiği belirtilmektedir. Mikrovillus membran disakkaridaz aktivitesinde ve glikozun aktif transportunda düşüşlerin meydana geldiği de bildirilmiştir (340).

Giyardiyazisin sebep olduğu tahribatla ilişkili ilgi çekici diğer bir hipotez de parazitin salgıladığı hyaluronidaz, proteaz, ve mukopolisakkaridaz gibi enzimlerle parazitin kolon mukozasına invaze olmasını kolaylaştırması şeklinde değerlendirilmektedir. Salgıladığı bir ekzotoksin vasıtasıyla bağırsak epitel hücrelerinde hasara sebep olduğu bildirilmektedir. Bununla beraber parazitin taşıdığı farklı proteinazların bulunmasının, mikrovillus membranının yüzey proteinleri üstüne muhtemel zararlı etkileri hususunda fikir verdiği belirtilmektedir. *G. intestinalis*in bunun yanı sıra konağın tripsini vasıtasıyla aktivasyonu sağlanan mannoz bağlayıcı bir yüzey lektini bulundurduğu da belirtilmektedir. Mannoz bağlayıcı yüzey lektininin villus yapısında iki değişikliğe sebep olabileceği belirtilmektedir. Bu değişikliklerden bir tanesi, lektinin enterositler üzerinde direkt olarak hasara sebep olmasıdır. Öteki ise *Giardia*'nın taşıdığı mannoz bağlayıcı lektinin bir mitojen gibi enterositleri azalttığı, dolayısıyla çok sayıda gelişmemiş enterosit ortaya çıkmasını, bu durumunda disakkaridaz aktivitesinde düşüşü indüklemesidir. Bu iki mekanizma da şu an için kesin olarak kanıtlanamamıştır (341).

Bunun yanı sıra mukozada oluşan inflamasyonun da epitel tahribatına sebep olduğu belirtilmektedir. Öteki inflamatuvar bağırsak rahatsızlıklarında olduğu gibi giyardiyazisde de lamina propriada inflamatuvar farklılıklar olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte ince bağırsak mukozasında artan lektin ya da anti CD4 antikorlarının T hücresi aktivasyonunu yükselterek, villöz atrofiye sebep olduğu belirtilmektedir. Giyardiyaziste T hücre aktivitesinin artmasının özgül *Giardia* antijenleri ya da *Giardia* lektininin olası doğrudan etkisiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir. Artan lenfositlerin yanında, bölgeye gelen mast hücreleri ve bunların sebep olduğu lokal anaflaktik etkilerin giyardiyazisteki inflamatuvar cevabı daha da belirgin hale getirdiği belirtilmektedir. Tüm bu sayılan mukozal etkilerin immünitesi baskılanmış bireylerde çok daha ağır şekilde meydana geldiği

bildirilmektedir (337, 342). Yapılan araştırmalarda *Giardia* infeksiyonunun villusların kısalması yoluyla intestinal absorbsiy (341).

Giardia intestinalis ince bağırsağın üst bölümlerinde mukozal epitele ventral yüzündeki emici disk vasıtasıyla yapışarak yerleştiğı belir on kabiliyetini azaltarak malnutrisyona neden olduğı bildirilmiştir tilmektedir. Parazitin intestinal mukozaya tutunmasını kolaylaştıran ilginç bir yeteneğinin de salgıladığı bir lektin proteininin bu yapışmayı kolaylaştırması ve bununla birlikte duodenum salgılarının bu lektinin oluşumunu uyarması olduğı belirtilmektedir. Böylelikle mukozal epitele yapışabilen protozoonun yapışma sonucunda neden olduğı mekanik etki vasıtasıyla mukozal irritasyona da sebep olduğı; bu durumun da *Giardia*'nın patojen etkilerinden birini meydana getirdiğı belirtilmiştir (337, 343).

Kimi hastalarda giyardiyazise sekonder intestinal bakteri artışı ortaya çıktığı ve bu bakteriler vasıtasıyla safra tuzlarının daha fazla konjugasyonu sonucunda, yağ emiliminde bir düşüş olduğı belirtilmiştir. Bununla birlikte parazitin kendisi tarafından harcanan safra tuzlarının da yağ emilimini negatif açıdan etkileyen ve pankreatik lipazın etkisini de düşüren bir takım intestinal duruma sebep olduğı belirtilmektedir. *Giardia* trofozoitlerinin konağın hidrolitik enzimleriyle de etkileşime girebildiğı; böylelikle tripsin aktivasyonu ve lipolizinin inhibe edildiğı belirtilmektedir (337).

Giyardiyazis için risk taşıyan grupların; bebeklik ve çocukluk döneminde anne sütüyle beslenemeyenler, iyi beslenemeyen bebek ve çocuklar, turistler, immün sistem yetmezliğı olan kişiler, erkek homoseksüeller, doku antijeni gruplarından HLA A1, A2, B8, B12'yi bulunduranlar, peptik ülser, safra kanalı hastalıkları, pankreatit, aklorhidri, gastrektomi, kistik fibrozis gibi hastalıklardan muzdarip olanlar olduğı belirtilmektedir (337).

1.3.2.5. Epidemiyoloji

Giardia intestinalis enfeksiyonu tüm dünyada görülür (331). Yüksek riskli gruplar içinde bebekler, küçük çocuklar, bağışıklığı baskılanmış kişiler ve kistik fibrozlu hastalar yer alır (344).

Giyardiyazis özellikle kötü sağlık koşullarının olduğu bölgelerde yaygındır. Giyardiyazis prevalansının %20-40 kadar yüksek olduğu bildirilmiştir, enfeksiyon oranı en fazla 5 yaş altı çocuklar arasındadır (331). Dünya çapında *G. intestinalis*, 5 yaş altı çocuklarda *Rotavirüs* ve *Cryptosporidium spp.*den sonra üçüncü sırada en yaygın diyare hastalığı ajanıdır. Her yıl 300 milyondan fazla vaka rapor edilmektedir (345). Dışkı örneklerinde *Giardia* bulunan birçok hasta asemptomatiktir; bazı çalışmalarda *Giardia* asemptomatik bireylerin dışkısında akut diyare olan bireylere göre daha sık gözlenmiştir (346).

ABD’de yapılan bir vaka kontrol çalışması, sporadik giardiyazis için aşağıdaki risk faktörlerini tanımlamıştır:

- Uluslararası seyahat
- Nehir, göl, dere veya yağmur suyundan içme suyu temini
- Doğal yüzme göletleri
- Erkek-erkek cinsel davranışı
- Çocuk bezleriyle temas
- Antibiyotik kullanımı
- Kronik gastrointestinal durumun varlığı (347).

*Giardia intestinalis*in intestinal malabsorbsiyon ve diyareye sebep olan, dünya genelinde sık görülen bir intestinal protozoon olduğu belirtilmektedir. İçme suyu kaynaklı en fazla rastlanan patojenlerden bir tanesi olduğu belirtilmektedir. Gelişmiş ülkelerde %2-5 arasında, gelişim göstermekte olan ülkelere %20-30’a varan oranlarda dağılım gösterdiği bildirilmektedir. Bilhassa çocukluk çağında yüksek sayıda rastlandığı ve uzun süreli diyarelerle bağlantılı malnutrisyon ve gelişme geriliğine sebep olduğu belirtilmektedir (336, 337). Ülkemizde de son zamanlarda yapılan araştırmalar irdelendiğinde ayrı bölgelerde %0,8’den %54,8’e kadar değişik oranlar bildirilmiştir (348-350).

Giyardiyazis, insanlar arasında fekal oral ya da cinsel yolla bulaş gösterebilir. Yapılan araştırmalarda hayvanlarda bulunan *Giardia* türlerinin de insanları enfekte ettiği izlenmiş ve zoonotik bulaşın da olduğu tespit edilmiştir. *Giardia* kistlerinin insanlar arasındaki bulaşının fekal oral yol ile bireyden bireye

bulaş ve kontamine yiyecek ve sular vasıtasıyla çevresel bulaş olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştiği bildirilmiştir. Fekal oral yolun giyardiya bulaşında en önemli yol olduğu bildirilmektedir. Sağlıksız ve hijyen şartlarının kötü olduğu ortamlarda gelişimini tamamlamış ülkelerde dahi yüksek oranlarda (%5-43) giyardiya bulaşına rastlandığı belirtilmektedir (336, 351).

Kontamine yiyecek ve sular yoluyla çevresel bulaşta, nüfusun büyük bir kısmı tek kaynaktan enfekte olabildiğinden bunun giyardiya bulaşının epidemiyolojisinde en büyük risk olarak görüldüğü belirtilmektedir. Su kaynaklarının kontaminasyon sebeplerinden en önemlisinin, temas ettikleri kanalizasyonlar olmakla beraber, insanları enfekte edebilecek *Giardia* türlerinin rezervuarı olan hayvanların da suların kontaminasyonunda potansiyel bir tehlike olabileceği belirtilmektedir (351).

1.3.2.6. Klinik

Giyardiya bulaş ile ilişkili klinik bulgular değişkendir. Genel olarak, etkilenen bireylerin yaklaşık yarısı asemptomatik olarak geçerir, hastaların yaklaşık %15'i kistleri asemptomatik olarak döker ve geri kalan %35-45'inde semptomatik enfeksiyon görülür. Hastada klinik belirtiler, virülansa, parazit yüküne ve konakçı bağışıklık cevabı gibi faktörlere bağlıdır (352, 353).

1.3.2.6.1. Asemptomatik Enfeksiyon

Asemptomatik enfeksiyon hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülür ve asemptomatik kist dökülmesi altı ay ya da daha fazla sürebilmektedir (354).

Çoğu çocuğun ishal kliniği olmadan iki yaşına kadar *Giardia* ile karşılaşacağı gözlenmiştir, ancak enfekte olmuş çocuklarda gelişme geriliği izlenebilir (287).

1.3.2.6.2. Akut Giyardiya bulaş

Akut giyardiya bulaş belirtileri arasında (352):

- İshal-% 90
- Malasya-%86
- Kötü kokulu ve yağlı dışkı (steatore)-%75

- Karın krampları ve şişkinlik-%71
- Şişkinlik-%75
- Bulantı-%69
- Kilo kaybı-%66
- Kusma-%23
- Ateş-%15
- Kabızlık-%13
- Ürtiker-%10

Semptomlar genellikle 7-14 günlük bir kuluçka döneminden sonra gelişir. Semptomlar iki ile dört hafta sürebilir (352).

1.3.2.6.3. Kronik Giyardiyazis

Kronik giyardiyazis, hastalığın akut fazını izleyebilir veya akut hastalık olmadan da gelişebilir. Semptomatik hastaların yarısında kronik semptomlar gelişebilir. Enfekte olmuş kişilerde yapılan bir çalışmada, %84'ü kendiliğinden hastalığı sınırlamıştır (ortalama süre 18 gün). Geri kalan kısım kronik giyardiyazis olarak devam etmiştir (355).

Kronik giyardiyazis belirtileri şunları içerebilir:

- Gevşek dışkı ancak ishal değil
- Steatore
- Fazla kilo kaybı (vücut ağırlığının %10 ile 20'si)
- Malabsorpsiyon
- Büyüme gerliği
- Malasya
- Yorgunluk
- Depresyon
- Karın krampları
- Şişkinlik

Malabsorbsiyon, giardiyazisde meydana gelebilecek önemli kilo kaybından sorumludur. Asemptomatik enfeksiyon vakalarında bile, yağların, şekerlerin,

karbonhidratların ve vitaminlerin malabsorbsiyonu meydana gelebilir. Bu hipoalbuminemi ve vitamin A, vitamin B12 ve folat eksikliklerine yol açabilir (356).

Edinilmiş laktoz intoleransı hastaların %40'ında görülür; klinik olarak, bu, süt ürünlerinin yutulmasının ardından bağırsak belirtilerinde alevlenme ile kendini göstermektedir. Parazit temizlendikten sonra bile iyileşme haftalar alabilir (357).

Komplikasyonlar

Az sayıda hastada kalıcı enfeksiyon, malabsorbsiyon gelişimi ve kilo kaybı ile ilişkilidir (358). Bazı hastalarda ilk tedaviden sonra kalıcı enfeksiyon görülebilir (359). Kronik giyardiya, inflamatuvar barsak hastalığı dahil malabsorbsiyon ile alakalı öteki hastalıklara benzer klinik verebilir (360).

Kronik giyardiya çocuklarda büyüme ve gelişmeyi etkileyebilir (361). Brezilya'da 597 çocuğu içeren bir çalışmada, asemptomatik giyardiya olan çocuklar arasında bile büyüme gelişme geriliği izlenmiştir (361).

Kızarıklık, ürtiker, aftöz ülserasyon ve reaktif artrit ya da sinovit gibi aşırı duyarlılık durumları nadir de olsa giyardiya tanımılanmıştır (362, 363).

Seyrek olarak, *Giardia* duodenumdan safra ve pankreatik kanallara yayılarak kolesistit, kolanjit veya granümatöz hepatite yol açabilir. Tripsin ve lipaz salgılanmasının azalması ile bozulmuş ekzokrin pankreatik fonksiyonu da tanımlanmıştır. Daha önce enfekte olmuş kişiler etkili tedaviden yıllar sonra bile kronik semptomları gösterebilirler. Norveç'te giyardiya salgının ardından yapılan bir kohort çalışmasında, 800'den fazla bireyde irritabl bağırsak sendromu (%39) ve kronik yorgunluk (%31) semptomlarının altı yıl sonra bile izlendiği tespit edilmiştir. ABD'de yapılan bir başka çalışmada, giyardiya tanısı konan bireylerin ilerleyen yıllarda irritabl bağırsak sendromu tanısına daha yatkın olduklarına dikkat çekilmiştir (364, 365).

Bulaşma yolları

Enfeksiyöz *Giardia* kistlerinin insanlara bulaştırılması üç yolla gerçekleşebilir; su kaynaklı, gıda kaynaklı ya da fekal-oral bulaşmadır (352).

Su kaynaklı bulaşma, *Giardia* bulaşının ana kaynağıdır. *Giardia* kistleri, soğuk suda dayanıklı oldukları için kolayca hayatta kalırlar (366). Bunun için, giardiyaz, yeterince filtrelenmemiş, kaynatılmamış su kullanan kişilerde diyare hastalığının önemli bir nedenidir (367). *Giardia* kistleri klorlamaya karşı dirençlidir; Giardiyazisin gıda yoluyla bulaşımı, kistlerle kontamine olmuş çiğ veya az pişmiş yiyeceklerin (çiğ sebzeler, salata çubukları ve taze meyveler dahil) yenilmesi ve pişirildikten sonra kontamine olmuş yiyecekler yoluyla gerçekleşebilir (368). Çocuk bakım merkezleri gibi dışkı kontaminasyon riski yüksek ve kötü hijyen bulunan ortamlarda kişiden kişiye bulaşma meydana gelebilir (369). Giardiyazis heteroseksüel veya homoseksüel anal-oral cinsel temas yoluyla da bulaşabilir (370).

1.3.2.7. Tanı

Giardiyazis tanısı için antijen saptama tahlilleri, nükleik asit saptama tahlilleri ve dışkı mikroskopisi kullanılır (371). Antijen ve nükleik asit saptama testleri, dışkı mikroskopisinden daha hassastır (371).

Antijen saptama analizleri; Dışkı analizi için kist veya trofozoit antijenlerine karşı antikorlar kullanan bir dizi immünoanaliz geliştirilmiştir. Mevcut kitler arasında florescein-etiketli monoklonal antikorlar, immünokromatografik analizler ve enzime bağlı immünosorbent analizler (ELISA'lar) kullanan doğrudan immünofloresan analizler (DFA) bulunur. Genel olarak, bu yöntemler geleneksel dışkı mikroskopi yöntemlerinden daha fazla hassasiyete ve daha hızlı sonuç verne süresine sahiptir. Bazı çalışmalar DFA'nın en yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir (372, 373).

325 dışkı örneği üzerinde yapılan bir çalışma, belirli bir *Giardia* antijenine (antijen 65) karşı bir ELISA'nın dışkı mikroskopisine göre %30 daha fazla *Giardia* vakası saptadığını göstermiştir (374).

Giardia tanısı için dışkı mikroskobu, DFA ve immünodiyagnostik tekniğini karşılaştıran bir başka çalışmada, vakaların %76'sında yöntemler arasında benzerlik olduğu ve immünolojik yöntemlerin, vakaların %12'sinde dışkı mikroskobuna göre daha olumlu sonuçlar saptadığı bulunmuştur (375). Saptanabilir

dışkı antijenlerinin kaybı etkili tedaviyi düşündürür, ancak devam eden dışkı antijen dökülmesi, öldürülen parazitlerin dökülmesini yansıtabilir.

Nükleik asit amplifikasyonu deneyleri; dışkı örneklerinde *Giardia* 'yı tespit etmek için geliştirilmiştir (371).

Dışkı mikroskopisi; *Giardia* 'yı tanımak için ve ayrıca gastrointestinal semptomların diğer potansiyel parazit nedenlerini tespit etmek için yararlı olabilir. *Giardia* kistlerinin aralıklı olarak atılımı (en fazla üç dışkı muayenesi gerekir), uzun işlem prosedürleri ve teknisyen uzmanlığı dezavantajı olarak söylenebilir. Dışkı örneklerinin laboratuvarda işlenmesi trofozoitleri ve kistleri aramak için bir tuzlu su süspansiyonundan ve kalıcı boyama için bir polivinil alkol ve/veya formalin preparatından oluşur. Genel olarak, giyardiya olan hastalarda periferik lökositöz veya eozinofili yoktur. Dışkıda yağ atılımı olabilir (371).

1.3.2.8. Tedavi

Giyardiya ilk tedavisi için tercih edilen ajanlar arasında tinidazol ve nitazoksanit bulunur (376). 3 yaşın üzerindeki hastaların tedavisi için, nitazoksanitten daha uzun bir yarı ömre sahip olduğu ve yüksek etkinliği olan (>% 90) tek bir doz olarak uygulanabildiği için tinidazol tercih edilmektedir. 12-36 aylık hastaların tedavisi için nitazoksanit tercih edilir. 12 aylıktan küçük hastalar için tinidazol ve nitazoksanit kullanımına ilişkin sınırlı veriler göz önüne alındığında, bu hastalar için metronidazol önerilir (368).

Metronidazol etkinliği giyardiya tedavisi için %100'dür. Oral metronidazol sadece tablet formunda mevcuttur. Metronidazol bebeklerde kullanılabilir; tabletleri yutamayan çocuklar için, oral bir süspansiyon hazırlanabilir (377).

Metronidazol ile ilişkili yan etkiler, tinidazol ile ilişkili olanlardan daha yaygındır; metalik tat, mide bulantısı, gastrointestinal rahatsızlık ve baş ağrısını içerir. Bunlar hastaların %27'sinde görülür (368). Daha az görülen etkiler lökopeni, koyu renkli idrar, parestezi ve baş dönmesidir. İlaç disülfiram benzeri bir etki ile ilişkilendirilmiştir, bu nedenle alkol tüketiminden kaçınılmalıdır (378).

Albendazol veya mebendazol, giyardiya tedavisinde benzer bir etkinliğe (%80-100) sahiptir (368). Albendazol tabletler halinde gelir; mebendazol tabletler veya süspansiyon halinde gelir. Biyoyararlanımı artırmak için her iki ilaç da yiyeceklerle birlikte alınmamalıdır (378).

Albendazol veya mebendazol, tinidazol veya metronidazole göre daha az yan etkiye sahiptir. Ayrıca, her iki ilaç da *Giardia* hastalarında (kanca kurdu ve *Ascaris* gibi) koenfeksiyon olarak oluşabilecek diğer parazitlere karşı aktiviteye sahiptir. Giyardiya'ya karşı aktivitesi olan diğer ajanlar arasında paromomisin, furazolidon, kinakrin ve diğer nitroimidazoller bulunur (379).

1.3.3. *Entamoeba histolytica*

1.3.3.1. Tarihçe

Amebiasis ilk önce ateşi ve dizanterisi olan bir hastayı tanımlayan Hipokrat tarafından M.Ö. 460 ile 377 yıllarında (380) ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Daha sonra Eski Ahit ve Huang Ti'nin (380) iç hastalıkları kitabında MÖ 140 ile 87 yıllarında dizanteriye atıfta bulunulmuştur. *E. histolytica* araştırmasının ilk kez literatüre girişi Kean (380) ve Clark ve ark. (381) tarafından gerçekleştirilmiştir. *E. histolytica* ve *amebiasis* çalışmasındaki kilometre taşları ise 1873'te Losch (382) tarafından *amebiasis* tanımlanması, 1890'da amebik karaciğer apsesi ve kolitinin Osler ve meslektaşları tarafından (382) 1890'da tanımlanması, 1961'de Diamond tarafından (382) yapılan kültürde patojenik olan *E. histolytica* üretmesidir. 1979'da patojenik olmayan *E. dispar* tespit edilmiştir. 1828'de James Annesley (380) ilk olarak dizanteri ve karaciğer apsesi birlikteliğine işaret ederek “hepatik hastalık bağırsak bozukluğundan kaynaklanıyor gibi görünüyor” ifadesini kullanmıştır. Bağırsak hastalığını düşündüren bir klinik sendrom ilk olarak 1800'lerin ortalarında yaygın olarak tanımlanmıştır, ancak o sırada parazitik bir etiyoloji belirlenmemiştir. 1855'te Prag'da dizanteri olan bir çocuktan dışkı örneğinde *amibin* gözlendiği bir vakanın kaydedilmesiyle parazitik etyolojinin araştırılması önerilmiştir. 1875'te Fedor Losch (383) dizanteri hastalarının dışkı örneğinden *E. histolytica* izole etmiştir.

Leonard Rogers (384), 1912'de amebiazis için ilk etkili tedavi olarak belirlemiştir. 1913'te Walker ve Sellards (385), *E. histolytica*'nın enfektif kist formunu göstermiştir. 1925 yılında Dobell (386), *E. histolytica*'nın yaşam döngüsünü tarif etmiştir. Brumpt (386), *E. histolytica* ve *E. dispar*'ın morfolojik olarak aynı olduğunu, ancak insanlar için sadece *E. histolytica*'nın patojenik olduğunu öne sürmüştür. Diamond (387) ilk kez bulaştırıcı olmayan kültürde *E. histolytica* üreterek 1961 yılında hücre biyolojisi açısından önemli bir adım atmıştır. 1978'de Sargeant ve arkadaşları (388) *E. histolytica* ve *E. dispar* türlerinin zimodeme analizi kullanılarak ayırt edilebileceğini bildirmişlerdir.

1.3.3.2. Sınıflandırılması

İnsan sindirim sisteminde yaşayan amiplerin sınıflandırması şu şekildedir (389):

Taksonomi:

Üst bölüm: *Eukaryot*

Bölüm: *Protozoa*

Üst sınıf: *Sarcodina*

Sınıf: *Rhizopodea*

Takım: *Amoebida*

Aile: *Entamoebidae*

Cins: *Entamoeba*

Tür: *Entamoeba histolytica*

Entamoeba dispar

Entamoeba moshkovskii

Entamoeba coli

Entamoeba hartmanni

Entamoeba polecki

1.3.3.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü

*Entamoeba histolytica*nın insanlarda trofozoit, prekist, kist, metakist ve metakistik trofozoit formları gözlenmektedir (390-393).

Trofozoit şekli

Bu şekil amorf biçimli olup; uzunlukları 12-60 µm arasında değişiklik göstermektedir. Aktif şekilde pseudopotlarla hareket ettiği, büyüyüp, beslendiği ve çoğaldığı evredir. Sitoplazması ekto ve endoplazma olarak ikiye ayrılmaktadır ve bu iki katman bilhassa pseudopotlar bölgesinde birbirlerinden rahatlıkla ayırt edilebilmektedir (390). *Entamoeba* türlerinin trofozoid yapıları şekil 7’de şematik olarak gösterilmiştir.

Ektoplazma refraktif şekilde iken, endoplazma granüler yapıdadır. Taze gaitalarda seri şekilde hareket ederken, eski gaitalarda hareket daha ağır ve pseudopotları kısa ve geniş biçimde gözlenebilmektedir. Trofozoit yapısının iki tipi mevcuttur:

1. Doku şekli: Enfektif, girişimsel ya da patojen şekil isminin de verilebildiği belirtilmektedir. Esas parazit ve patojen olan bu şeklin 20-60 µm boyutlarında olabileceği bildirilmektedir. Enfeksiyon esnasında kimi zaman sitoplazması içerisinde eritrositler bulunmaktadır. Direkt mikroskopik incelemede nükleus tam olarak ayırt edilememektedir; fakat boyanmış preparatlarda nükleusun kese şeklinde görüldüğü belirtilmektedir. Nükleusda; eş boyutlarda ve düzenli sıralanmış periferik kromatin tanecikleri, nokta benzeri küçük ve orta bir karyozom (nükleolus) mevcuttur.

2. Bağırsak boşluğu şekli: Kommensal, patojen olmayan ya da minuta şekli isminin de verildiği bilinmektedir. Sitoplazma içerisinde eritrositlerin gözlenmediği bu şekil 12-20 µm boyutunda olup, akut amipli dizanteri evrimini geçirmiş bireylerin ve portör olanların gaitalarında bulunduğu belirtilmektedir (390-392, 394).

Prekist şekli

Enfeksiyonun kronik hale geldiği durumlarda ve tedavi gören bireylerin gaitalarında gözlenmektedir. Trofozoitlerin bölünmesinin ardından meydana gelmektedir. Kist evresi öncesinde besin vakuollerinin ortadan yok olmasından sonra, nükleus şekli trofozoitin nükleusu şekline benzerlik göstermektedir. Ektoplazma ve endoplazmanın ayrılmadığı, sitoplazmasında çomak biçiminde ve tanecikler şeklinde kromatoid cisimciklerin gözlenebildiği geçici bir yapı olduğu bildirilmektedir (390-392). *Entamoeba* türlerinin prekist yapıları şekil 7’de şematik olarak gösterilmiştir.

Kist şekli

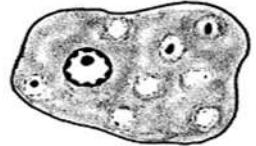
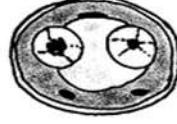
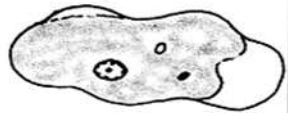
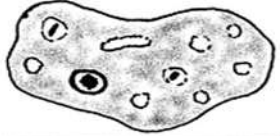
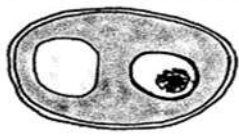
Prekistlerden oluşan evrim biçimleri olup, boyutları ortalama olarak 12-15 µm arasında değişiklik göstermektedir. Kistler immobil, yuvarlak şekilli, 1-4 çekirdekli, 0,5 µm kalınlığında kitinden oluşan refraktil bir kist zarıyla sarmalanmış şekildedir. Çekirdek şekli trofozoitlerle eş niteliktedir. Ancak kist gelişimi esnasında çekirdekler, her bölünme sonrasında daha küçük duruma gelmektedir. Boyalı preparatlarda, kistler içerisindeki çekirdekler daha net şekilde gözlenmektedir. Bir iki çekirdekli kistler içerisinde gözlenebilen kromatoid cisimcikler bir ya da iki tane olup, ışığı kıran, sosis biçiminde gözlenmektedir. Fakat bu formlar, kist meydana geldikten bir müddet sonra yani 4 çekirdekli olgunlaşmış kistlerde ortadan kalkmaktadır. Bir ya da iki çekirdekli kistlerde gözlenen vakuolün içerisinde glikojen depolanmaktadır. İyotla boyanmış preparatlarda koyu kırmızı renkte görülür. Boyalı preparatlarda olgunlaşmış (dört nükleuslu) kistlerdeki çekirdeklerde vaküol gözlenmemektedir. Dış ortama dirençli olan olgunlaşmış kistler enfeksiyonun bulaşında en önemli rolü oynar (390-392, 394, 395). *Entamoeba* türlerinin trofozoid yapıları şekil 7’de şematik olarak gösterilmiştir.

Metakist şekli

Olgun dört çekirdekli kistlerin su ve gıdalar vasıtasıyla sindirim kanalından alındıktan sonra, kalın bağırsaklarda 4 çekirdekli metakistik amip yapısına dönüştüğü belirtilmektedir. Metakistte yer alan çekirdeklerin bölünmesinden sonra

sekiz tane çekirdekli çevresine sitoplazma biriken küçük amipler meydana gelmektedir. Bu amipler kalın bağırsağa yerleşir ve bu kısımda olgunlaşarak, patojen trofozoitler ya da kommensal trofozoitler yapısına dönüşür (390-392, 394).

Entamoeba histolytica ve *E. dispar* trofozoitleri şekilsel olarak birbirlerinden ayırt edilememektedir. *E. dispar*ın trofozoitleri içerisinde sıklıkla eritrosit yer almamaktadır (396). Haque ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada, *E. dispar* tespit edilen örneklerin %15,7'sinde, *E. histolytica* tespit edilenlerinin ise %68'inde eritrositlerin fagositoza uğramış olduğu görülmüştür. Böylece mikroskopla bakıldığında amip içerisinde eritrosit varlığının tek başına *E. histolytica*yı düşündürmeyeceği gösterilmiştir (390-392).

Organism	Trophozoite	Precyst	Cyst
<i>E. histolytica</i> <i>E. dispar</i> <i>E. moshkovskii</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>E. hartmanni</i>			
<i>I. bütschlii</i>			

Şekil 7. Entamoeba histolytica'nın morfolojik tipleri (390)

İnsanlar *E. histolytica*nın bilinen ilk sıradaki konağıdır. Ana bulaşma kaynağı kronik olarak enfekte olmuş insandır. Parazitin kist formu taze yiyecekleri veya suyu enfekte edebilir (396). Diğer yaygın bulaşma kaynağı oral-anal cinsel temastır (397). Zoonotik bulaşma net değildir (398).

Enfektif kistler, hamam böceği ve sinek gibi eklembacaklılar tarafından yayılabilir, bu da bu böceklerin bulaşmada nadir fakat önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (399).

*Entamoeba histolytica*nın yaşam döngüsü basittir. Enfektif bir kist aşaması ve çoğalan bir trofozoit aşamasından oluşur. İnsanların, enfektif kistlerin yutulmasıyla bağırsak lümeninden ince bağırsağa (terminal ileum) gider ve enfekte eder, burada her biri enfektif kistlerin yutulmasıyla sekiz trofozoit oluşturmak için bulunur. Trofozoitler, gastrointestinal sistemi çevreleyen bağırsak epitel hücrelerine yapışan hareketli formlardır. Trofozoitler, psödopod adı verilen sitoplazmanın uzantıları ile hareket ederler. Ayrıca bu uzantıları gıda partiküllerini çevrelemek ve yutmak için kullanırlar. Sitoplazma sıklıkla yutulan birçok kırmızı kan hücresi içerir. *E. histolytica* trofozoitleri her zaman tek bir çekirdeğe sahiptir. Trofozoitler dış ortamda kolayca yok edilir, dakikalar içinde dejenere olur (396).

*Entamoeba histolytica*nın trofozoiti, çekirdeği olan bir prekist forma dönüşebilir ve bu form, kolondan aşağı ve dışarı doğru hareket ederken dört çekirdekli bir kiste dönüşür. Prekist, kromatoid cisimler adı verilen ribozom agregatlarının yanı sıra, olgun bir kist haline gelmek üzere hücre küçüldükçe ekstrüde edilen gıda vakuollerini içerir. Kontamine yiyecek veya suda tüketildiğinde bulaşıcı olan olgun kisttir. Tetranükleat olma sürecinde, kistin çekirdeği iki kez bölünür. Bu aşamada kromatoid cisimler ve glikojen vakuoller görülemez (396, 400).

Kistler, özellikle nemli koşullar altında haftalar veya aylar boyunca konakçı dışında hayatta kalabilirler (391), ancak -5°C 'nin altındaki ve 40°C 'nin üstündeki ısılarda hızla yok olurlar (401). Kistler invaziv değildir, ancak trofozoitler gastrointestinal mukozaya nüfuz edebilir (400). Oradan, trofozoitler diğer organlara göç edebilir ve ekstraintestinal enfeksiyonlara neden olabilir (402).

Diğer protozoalar gibi, *E. histolytica* de novo purin sentezi yapamaz. Biyokimyasal analizlerde *E. histolytica*nın glutatyonunun mevcut olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle *E. histolytica*, yüksek ökaryotlardan farklıdır. Ayrıca ATP yerine pirofosfat kullanır (403). Ayrıca trofozoitin sitoplazmasında toplanmış ribozomların kristalin dizileri de görülebilir (402).

*Entamoeba histolytica*nın gen organizasyonu, diğer ökaryotlardan oldukça farklı görünmektedir. *E. histolytica* kromozomlarının yapısı henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, elektrokaryotipik analiz, kromozomların boyutlarının 0,3 ile 2,2 Mb arasında değiştiğini ve toplam haploid genom boyutunu yaklaşık 20 Mb verdiğini göstermektedir (404).

1.3.3.4. Patogenezi

Konak-parazit etkileşimi karmaşıktır ve farklı *E. histolytica* suşlarının virülansı değişkendir (405). Kolit, trofozoitin bağırsak mukoza tabakasına nüfuz etmesinden sonra ortaya çıkar, aksi takdirde invazyon için bir bariyer görevi görür (406). Trofozoit, aşağıdakiler de dahil olmak üzere bir dizi farklı mekanizma yoluyla meydana geldiği düşünülen hem epitel hücrelerini hem de inflamatuvar hücreleri öldürebilir (407):

- Proteinazların trofozoitler tarafından salgılanması
- Konağa bağlı bir mekanizma ile hedef hücrelerin lizisi
- Memeli hücrelerinin apoptoz ile öldürülmesi (programlanmış hücre ölümü)
- Lipid çift katmanlarında gözenekler oluşturabilen ve enfekte olmuş hücrelerin sitolizi ile sonuçlanabilen küçük bir peptid ailesi olan amebaporların oluşumu
- Bağırsak geçirgenliğindeki değişiklikler, muhtemelen sıkı bağlantı proteinlerinin bozulması yoluyla.

Amebik trofozoitlerin patojenitesi, spesifik bir lektin (galaktoz-N-asetilgalaktozamin lektin) yoluyla kolon epitel hücrelerine yapışmayla kolaylaştırılır (407). N-terminal galaktoz veya N-asetilgalaktozamin kalıntısı olmayan memeli hücreleri, adezyondaki lektin için önemli bir rolle tutarlı olan amebik trofozoitlerin yapışmasına karşı dirençlidir. Bu lektin ayrıca bağışıklıkta da rol oynar. Bangladeş'te yapılan bir çalışma, lektine karşı mukozal IgA yanıtı olan çocukların, bir yıl boyunca bu yanıtı olmayan çocuklardan %86 daha az yeni enfeksiyona sahip olduğunu göstermiş (408) ve yeniden enfekte edildiğinde, dört yıllık bir takip süresi boyunca daha düşük bir semptomatik hastalık insidansına

sahip oldukları gösterilmiştir (409). Lipofosfopeptidoglikan, peroksiredoksin, arginaz, lizin ve glutamik asit bakımından zengin proteinler gibi diğer amebik moleküller de amebiyaz patogeneğinde rol oynar (410).

1.3.3.5. Epidemiyoloji

Amebiyazis dünya çapında görülür; gelişmekte olan ülkelerde sosyoekonomik koşullar ve sanitasyon düzeyleri nedeniyle yaygınlık artmaktadır. *E. histolytica* enfeksiyonu *E. dispar* enfeksiyonundan 10 kat daha sık görülür (411). Amebik enfeksiyon oranlarının yüksek olduğu alanlar Hindistan, Afrika, Meksika ve Orta ve Güney Amerika'nın bir bölümünü içerir. Amebik enfeksiyonun genel prevalansı bazı bölgelerde %50'ye kadar yükselebilir (411).

Bulaşma; parazit iki formda bulunur: bir kist aşaması (enfektif form) ve bir trofozoit aşaması (invaziv hastalığa neden olan form). Enfeksiyon, amebik kistlerin yutulmasından sonra ortaya çıkar; bu genellikle kontamine yiyecek veya su yoluyla olur, ancak fekal-oral temas yoluyla ve cinsel yolla bulaşabilir, bu nedenle yurt dışına hiç gitmemiş kişiler arasında endemik olmayan alanlarda enfeksiyon oluşabilir (412).

Kistler ortamda haftalarca, aylarca yaşayabilir ve tek bir kistin yutulması hastalığa neden olmak için yeterlidir. Kistler mideden geçer ve trofozoit oluşturmak için ince bağırsağa geçer. Trofozoitler, kolonun mukozaya bariyerine yerleşebilir ve doku yıkımına ve bağırsak sekresyonunun artmasına neden olabilir ve sonuçta kanlı ishale yol açabilir (412).

1.3.3.6. Klinik

İntestinal amebiyazisin inkübasyon süresi birkaç gün ile ay veya yıl arasında değişebilir (396, 413), ancak genellikle 1 ile 4 haftadır (414). Geniş bağırsak enfeksiyon spektrumu; asemptomatik ile geçici bağırsak inflamasyonuna, toksik megakolon ve peritonit içerebilen bir dizi tezahür ile fulminan kolite kadar uzanmaktadır (415).

1.3.3.6.1. Aseptomatik Kolonizasyon

Entamoeba histolytica enfeksiyonlarının %90'ı aseptomatiktir veya çok hafiftir (416, 417). Bu hastalarda dışkı örneklerinde kan öyküsü olmayan normal rektosigmoidoskopik bulgular vardır. Yutulan RBC'leri olmayan kistler ve trofozoitler mikroskopta görülebilir (413). İlginç bir şekilde, *E. dispar* ile değil, *E. histolytica* ile enfekte olan bireylerin çoğu, invaziv hastalık olmasa bile parazite karşı serum antikor tepkileri geliştirir (418). Şimdiye kadar, *E. dispar* ile enfeksiyon, özellikle gelişmiş ülkelerde *E. histolytica*dan çok daha yaygın olmasına rağmen, asla kolit veya amebik karaciğer apsesi nedeni olarak kabul edilmemiştir. Japonya'da homoseksüel erkeklerde *E. histolytica* görülürken, ABD ve Avrupa'da *E. dispar* etken olarak saptanmıştır (419, 420).

Günümüzde, birçok ülkede bağırsak amebiyasisi tanısı genellikle dışkı örneklerinin mikroskopik incelenmesine dayanmaktadır. Ne yazık ki, *E. histolytica* ile enfekte hastaların yüzde kaçının aseptomatik olduğu net değildir (421). *E. histolytica*nın aseptomatik enfeksiyonunun yaygın olduğu düşünülmüştür; enfekte popülasyonun yaklaşık %10'unda invaziv amebiyazisin belirti ve semptomları gelişir (422). Amebiyazisin gerçek prevalansının tahmini kolay değildir, çünkü birçok çalışma bir dışkı örneğinin sadece bir mikroskopik incelemesi ile yapılmıştır (423).

Semptomatik *E. histolytica* bağırsak enfeksiyonu sistemik bir bağışıklık yanıtı gösterirken, aseptomatik *E. dispar* enfeksiyonları hastalık veya serum anti-amebik antikor yanıtı göstermez (422).

1.3.3.6.2. Amebik Kolit ve Dizanteri

İnsanlar *E. histolytica* ile aseptomatik olarak kolonize olabilse de tedavi edilmelidirler. Aksi takdirde, kist taşıyıcıları olarak adlandırılan bu deneklerin bazıları çevresel olarak tehlikeli olabilir veya bir ay sonra kolit gelişebilir (422). *E. histolytica* colitis veya dizanteriye bağlanan semptomlar karın ağrısı veya hassasiyet ve ishaldir (sulu, kanlı veya mukuslu). İshal günde 10 defa (veya daha fazla) bağırsak hareketiyle ortaya çıkabilir ve ateş hastaların üçte birinde görülür (424). Hastalar genellikle iştahsızdır ve hastaların beşte birinde kilo kaybı gözlenir.

Charcot-Leyden kristallerinin varlığı, dışkı lökositlerinin eksikliği ve kan varlığı akut evrede en yaygın dışkı bulgularıdır. Tek bir dışkı muayenesinde parazitin saptanma duyarlılığı düşüktür (425). En iyi tanı yöntemi dışkıda *E. histolytica* antijeni veya DNA'sının saptanmasıdır (426). Amebiasisin klinik tanısı, semptomların spesifik olmaması nedeniyle zordur. *Şigelloz* (*S.dysenteriae* ve *S. flexneri*) (427) ve bir dizi diğer bakteriyel dizanteri (*Salmonella*, tropikal ve subtropikal ülkelerde yaygın olan *Campylobacter* ve *enterohemorajik ve enteroinvaziv E. coli*) etkenlerinin de klinik semptomları amebiazis ile benzerdir (428). Ek olarak, enfeksiyöz olmayan bağırsak hastalıkları (iskemik kolit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, divertikülit ve arteriyovenöz malformasyonlar) semptomlarını, kısmen amebik kolitli hastalarda ateşin olmaması nedeniyle enfeksiyöz hastalıklardan ayırmak çok önemlidir ve zordur. Ne yazık ki, aralıklı ishal, şişkinlik, seropozitiflik ve dışkıda amip ile karakterize kronik bağırsak amebiyazisi, ülseratif kolite benzeyebilir, bu da yanlış tanı ve kortikosteroidlerle tedavi ile sonuçlanır (429). *Amebiyazisteki* kolon bulguları mukozanın kalınlaşmasından şişe şekilli ülserasyona (çoğunlukla çekum veya çıkan kolonun yakınında, ancak nadiren sigmoidorektal bölgede) kadar farklılaşmıştır (413).

1.3.3.6.3. Ekstraintestinal Amebiyazis

Karaciğer apsesi, bağırsak dışı amebiyazisin en yaygın şeklidir. Amebik karaciğer apsesi (ALA) çoğu hastalarda yüksek ateş ve karın ağrıları ile ilişkilidir. Akut fazda sağ üst karın ağrısı veya hassasiyet görülürken, subakut aşırı kilo verme, yüksek ateş ve daha sık karın ağrıları görülmektedir (430). ALA yetişkinlerde çocuklardan daha sık görülür. *E. histolytica*, sadece az bir hasta grubunun dışkı örneklerinde mikroskopik olarak tanımlanmıştır (430, 431). Biyokimyasal olarak, birçok hastada periferik beyaz kan hücresi sayısında artış ve alkalen fosfat seviyeleri vardır (432). Ekstraintestinal amebiyazisin olağan dışı bölgeleri veya komplikasyonları arasında karaciğerden plevra (433) ve/veya perikard (430), beyin apsesi (426) ve genitoüriner amebiyazise (434) doğrudan uzanma yer alır. *E. histolytica*ya bağlı karaciğer apsесinin teşhisi, birçok hastada (430) 1 yıl içinde bağırsak hastalığı öyküsünün olmaması, serolojik analizin (432) tam duyarlılığından daha düşük olması ve ayırt edilememesi nedeniyle zor olabilir.

ALA'nın kesin tanısı, *E. histolytica* antikorları için pozitif serolojik testler ve bilgisayarlı tomografi, ultrasonografi, manyetik rezonans görüntüleme ve technetium-99 karaciğer taraması gibi görüntüleme teknikleriyle hepatik lezyonun gösterilmesi ile doğrulanır (432).

1.3.3.7. Tanı

Amebiyazisin tespiti laboratuvar incelenmesine dayanmaktadır. Patojen olan ve patojen olmayan türlerin ve tiplerin ayırt edilmesi tedavi ve hastalığın kontrol altına alınmasıyla ilgili uygulamaları yakından alakadar ettiği için barsak amibiyyazisinin laboratuvarında tespit edilmesi özellik arz etmektedir. Amebiyazisin tespitinde mikroskopik inceleme, ELISA, IHA ve lateks aglütinasyon gibi serolojik metotlar kullanılır. Son 10 yıl içinde moleküler biyolojik tanılama metotları son derece hızlı bir biçimde gelişim göstermiştir. Kesin tanımlama yalnızca dizanteriyi engellemek için değil, gelişim göstermekte olan ülkelerdeki kötü temizlik koşullarından köken alan yaygın semptomsuz kist taşıyıcılığını da önlemek açısından önem taşımaktadır (435).

1.3.3.7.1. Dışkı Mikroskopisi

Entamoeba histolytica'nın tanısı yakın döneme kadar yalnızca protozoon şeklinin doğrudan mikroskopik olarak incelenmesine dayanmaktaydı. Fakat sıradan ve ucuz maliyetli olması sebebiyle sıkça başvurulmuş direkt mikroskopinin yalnız başına herhangi bir tanısal değeri bulunmamaktadır. *E. histolytica*'ya şekilsel olarak benzeyen öteki amip türleri içerisinde ayrımın yapılabilmesi direkt mikroskopik inceleme ile mümkün değildir (436).

Gaita numuneleri boyasız olarak veya lugol ya da D'Antoni iodin ile boyanarak incelenmelidir. İyot, çekirdeği görülebilir duruma getirmektedir. Trofozoitler yaygınlıkla kanlı ve mukuslu yeni gaitada görülebilmektedir. Lam-lamel arasında direkt mikroskopi preparatlarında trofozoit çekirdeğinin görülmesi son derece zahmetlidir. Bir saat içinde hazırlanmış yeni preparatlarda hareket ederken görülebilmektedir. Trofozoitler pseudopodlarıyla doğrusal doğrultuda hareket edebilmektedir. Gaita alındıktan hemen sonra çalışılmayacaksa polivinil alkol benzeri bir fiksatif uygulanmalı ya da +4°C'de muhafaza edilmelidir.

Trofozoitler bu şartlarda 4 saate kadar hareket edebilirken, fikse edilmeden bekletilen gaita numunelerinde hızla parçalanmaktadır. Trofozoitlerin sitoplazmasında fagositoza uğramış eritrosit görülmesi çoğunlukla *E. histolytica* enfeksiyonu için tanı koydurucu olmakla beraber, akut dizanteri kliniği bulunmayan hasta kişilerde eritrosit bulunduran trofozoitlerin görülmeyebileceği belirtilmektedir. Bunun yanında kimi araştırmalarda *E. dispar* tespit edilen numunelerde de eritrositlerin fagositoza uğradığı trofozoitlerin gözleendiği bildirilmiştir. Semptomsuz bireylerde daha sık kistlere rastlanmaktadır (436, 437).

Boyalı preparatlarda olgunlaşmış kistlerdeki çekirdekler ve vaküol gözlenmemektedir. Boyalı preparatlarda, kistler içerisindeki çekirdekler daha iyi görülebilmektedir. Bir iki çekirdekli kistler içerisinde gözlenebilen kromatoid cisimcikler bir ya da iki tane olup, ışığı kıran, sosis biçimde görüldüğü belirtilmektedir. Fakat 4 çekirdekli olgun haldeki kistlerde bu yapı ortadan kalkmaktadır. Bir ya da iki çekirdekli kistlerde rastlanan vakuolün içerisinde glikojen depolanmaktadır. İyotla boyanmış preparatlarda koyu kırmızı renkte gözlenmektedir. Bununla birlikte deforme olmuş eozinofil artıkları olan Charcot-Leyden kristalleri (eozinofillerin salgıladığı ürünler) ve bir araya toplanmış eritrositler görülebilmektedir. Bağırsak protozoonlarını artefaktlar, konak hücreleri, lökositler, makrofajlar ve maya hücrelerinden ayırabilmek için kalıcı boyama metotları kullanılmaktadır. Kalıcı boyaların en yaygın uygulananları trikrom ve demir hematoksilendir. Trikrom boyama daha zahmetsiz ve daha az zaman alması sebebiyle sıkça uygulanmaktadır. Kalıcı boyalı preparatların hazırlanmasıyla direkt incelemede gözden kaçabilen protozoonlar daha rahat şekilde saptanır ve şekilsel yapıları detaylı şekilde incelenmektedir. Bunun yanı sıra preparatın deforme olmadan uzun müddet muhafaza edilmesi ve olumlu numunelerin eğitim amaçlı kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Fakat tespit şekilsel esaslara göre yapıldığından dolayı *E. histolytica*ya şekilsel olarak benzeyen *E. dispar* ve *E. moshkovskii* ile ayrımının yapılmasında yetersiz kalmaktadır (438). Mikroskopinin duyarlılığı %10-60 arasında değişiklik göstermektedir. Bu oranı artırmak için en fazla 10 gün içerisinde en az üç defa olmak üzere gaita numunesi alınıp irdelenmelidir. Böylece oranlar %85-95'lere kadar çıkabilir (436).

Mikroskopik incelemeyi yapan uzmanın yeteri kadar deneyime sahip olması gereklidir, aksi takdirde uygunsuz şekilde örnek alınması (örnek idrar ve suyla kontamine olmamalı), antibiyotik (tetrasiklin veya sulfonamid), laksatif antiasid, müshil (magnezyum sülfat), antidiyareik ilaçlar (kaolin veya bizmut) ve lavman kullanımı, uygun miktarda numune almamak, gaita numunelerini uygun fiksatiflerle muhafaza etmemek, ortamda benzer öteki amiplerin yer alması mikroskopiye negatif olarak etkileyen sebeplerin başında gelmektedir. Bununla birlikte direkt mikroskopik incelemede inmobil trofozoitleri polimorf lökositler, makrofajlar ve doku hücreleriyle ayırt etmek oldukça zahmetlidir (436, 437, 439).

Direkt mikroskopide esas olarak rapor edilen sonuçlar büyük ihtimalle hem hasta tedavisini hem de hastalık kontrolüne yönelik araştırmaları hatalı yönlendirmektedir (427, 428)

1.3.3.7.2. Kültür ve İzoenzim Analizi

Kültür metotları ksenik (difazik ve monofazik) ve aksenik sistemler biçiminde yapılmaktadır. Ksenik kültürler tespit edilmemiş bir florada parazitin bulunduğunu göstermektedir. Aksenik kültürler öteki hücrelerin eksikliğinde uygulanan parazit kültür işlemlerinden bir tanesidir.

Entamoeba histolytica kültürünü ilk defa 1925'te Boeck ve Drbohlav difazik yumurtalı besiyeri kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Robinson besiyeri ve Diamond'ın TYSGM-9 besiyeri *E. histolytica*'nın ksenik kültürü için en fazla başvuru besiyerleridir. *E. histolytica*'yı kültürde üretme oranları %50-70 arasında değişiklik göstermektedir.

E. dispar ksenik kültürde daha fazla üremektedir yalnızca birkaç izolatının aksenik kültürde üretilebildiği bildirilmektedir. *E. moshkovskii*'nin kültürü için kullanılan besiyerleri tek fazlı TTY-SB, tek fazlı TP-S-1-GM'dir. *E. histolytica*'nın kültürü ve izoenzim tahlili çoğunlukla noksan ve rutinde tercih edilmeyen metotlardır. Kültürde ve zimodem tahlilinde mikst enfeksiyonlu vakalarda bir etkenin öteki etkenleri baskılaması problemi göz ardı edilmemesi gereken bir husustur (400, 424) .

Kültür direkt mikroskopiden daha az duyarlılığa sahip olan bir metottur. Bakterilerin tersine protozoon kültürü tanımlama laboratuvarlarında hem zahmetli hem de uzun süre gerektiren işlemlerle yapılmaktadır. Nonpatojen *E. dispar* da kültürde kolayca üreyebildiği için patojen *E. dispar* ile ayrımı net şekilde sağlanamamaktadır. Sonuçta *Entamoeba* kültürü tanılamadan daha çok araştırma amaçlı kullanılan bir metottur (400).

Amip kültürünün bir diğer problemi de bilhassa *Blastocystis hominis* (*B. hominis*) gibi istenilmeyen parazitlerin çoğalması ve bu çoğalmaların *E. histolytica*ı gölgede bırakmasıdır. Unutulmamalıdır ki, kültürde *E. histolytica* üremesinin meydana gelmemesi *E. histolytica* enfeksiyonunun olmadığı anlamına gelmemektedir (429).

Patojen ve apatojen formları birbirinden ayırt etmek için amibik kültür izolatlarından izoenzim tahlili yapılması sıkça kullanılan bir metottur. 21 tanesi insan *E. histolytica* ve *E. dispar* suşlarından, 3 tanesi deneysel amibik kültür suşlarından izole edilen 24 değişik zimodem saptanmıştır. Bu zimodemler malik enzim, heksokinaz, glikoz fosfat izomeraz ve fosfoglukomutaz enzimlerinin elektroforetik bileşenlerini içermektedir. Zimodem analizi ile *E. histolytica* ve *E. dispar*ın birbirinden ayırt edilmesi, değişik genetik nitelikler gösterebilen heksokinazlar bulundurmaları özelliğine dayanarak yapılmaktadır. Zaman alan ve yapılması zahmetli bir metot olduğu halde, biyokimyasal nitelikler kullanılarak değişik zimodemlerin saptanması, endemik bölgelerde epidemiyolojik durumun incelenmesi bakımından yararlı olduğu bildirilmektedir (400).

1.3.3.7.3. Antikor Saptama Yöntemleri

Bağırsak amip enfeksiyonu için endemik bölgelerdeki pek çok insan *E. histolytica*ya bir çok kez maruz kalmaktadır. Olguların büyük kısmı semptomsuzdur. Eski ve yeni enfeksiyon ayrımını ortaya çıkaramayan antikor taraması kesin tanının konulması için yetersiz gelmektedir. Serolojik testler *E. histolytica* enfeksiyonunun endemik olmadığı gelişmiş ülkelerde yararlı olabilmektedir. Bütün olgularda serolojik testlerin paraziti saptayan metotlarla (antijen saptama ve PCR) beraber kullanılması tanı bakımından en mantıklı

yaklaşımıdır. Fakat antikor titrelerinin enfeksiyonun ciddiyetiyle veya tedaviye olumlu yanıt alınıp alınmadığıyla alakası henüz bilinmemektedir (400).

Gaita numunelerinde parazit görülmeyp, antikorların tespit edilmesi amebik karaciğer absesi (ALA) hastalarında tanı açısından önemlidir. Akut ALA öngörülen bir kişide antikor tespit edilmezse 7-10 gün sonra tekrardan bir numune alınmalıdır. Halen serokonversiyon oluşmamışsa etken olarak öteki ajanlar değerlendirilmelidir. *E. dispar* ile enfekte kişilerde serum anti-amibik antikor titrelerinde artma görülmemektedir (426, 428).

Semptomatik *E. histolytica* enfeksiyonu görülen kişilerin %75-85'inde *E. histolytica* serum antikorları saptanmıştır. Metot olarak IHA, karşıt immünoelektroforez, amibik jel diffüzyon testi, kompleman fiksasyon deneyi (CF), indirekt floresan antikor deneyi (IFA), lateks aglütinasyon ve ELISA kullanılabilmektedir (400, 424).

1.3.3.7.4. Antijen Saptama Yöntemleri

Amebiyazis tanısında antijenin tespit edilmesine yönelik kullanılan ELISA metodu diğer metodlara göre üstündür. *E. histolytica*-*E. dispar* ayırt edilmesi mümkündür; duyarlılıkları ve spesifiklikleri yüksektir; deneyimi olmayan laboratuvar çalışanları tarafından dahi uygulanabilmektedir; aynı anda fazla miktarda hasta numunesinin beraber çalışılabilmesi epidemiyolojik araştırmalar için daha cazip olmasını sağlamaktadır. Fakat formalinle fikse edilmiş gaita numunelerinde antijenin bozulduğu, yeni ya da dondurulmuş gaitayla çalışılması gerektiği belirtilmektedir (415).

Bugün kullanılmakta olan kitler *E. histolytica*'nın Gal/ GalNAc lektinine karşılık meydana getirilmiş monoklonal antikorlar veya *E. histolytica*'nın serince zengin antijenlerine karşılık meydana getirilmiş monoklonal antikorlar kullanarak antijen tayini yapmaktadırlar. Bunların haricinde lizince zengin yüzey antijenleri, lipo-fosfoglikan ve tükürük adherens lektin antijeniyle hazırlanan kitler de araştırma amacıyla kullanımdadır (415).

Serolojik ELISA metoduyla antijen tespit edilmesi deneylerinde gaita haricinde tükürük, serum ve apse sıvısı gibi numunelerde de antijen saptandığı bildirilmiştir (415).

1.3.3.7.5. Moleküler Tanı Metotları

Moleküler metotlar, mikroskopi ve kültür temelli metotlardan duyarlılık ve spesifiklik bakımından daha üstün olmalarından dolayı son zamanlarda sıkça kullanılmaktadır. PCR yöntemi bağırsak amibiyaz teşhisinde duyarlılık ve spesifiklik bakımından antijen belirleme metotlarıyla yarışmaktadır. Gaitanın miligramındaki tek bir *E. histolytica* trofozoitini dahi bu metotla tespit etmenin mümkün olduğu belirtilmektedir. Fakat hem teknik bakımdan ELISA'dan zahmetlidir, hem de daha maliyetli bir metottur. Profesyonel laboratuvar çalışanı ve özel ekipman gerektirmesi sebebiyle amibiyazın endemik olduğu gelişim gösteren ülkelerde kullanımı kısıtlı kalmaktadır. *E. histolytica*'nın genetik polimorfizm çalışmalarında yaygın kullanılmaktadır. Buna rağmen de PCR'ın çapraz kontaminasyonlara açık olduğu ve gaitadaki inhibitörlerden kolayca etkilenebildiği göz ardı edilmemelidir. PCR amibik karaciğer apsesi teşhisinde de kullanılabilir, fakat DNA izolasyonun öncesinde aspirasyon maddesinin proteazlarla muamele edilmesine gereksinim vardır (400).

1.3.3.8. Tedavi

Salgın hastalık geliştirme riski ve aile üyelerine yayılma riski göz önüne alındığında, tüm *E. histolytica* enfeksiyonları, semptomlar olmasa bile tedavi edilmelidir (406). Bağırsak *amebiyazisinin* antibiyotik tedavisinin hedefleri, enfektif trofozoitleri ortadan kaldırmak ve organizmanın bağırsak taşıyıcılığını ortadan kaldırmaktır. *E. dispar* enfeksiyonları tedavi gerektirmez. *Amebik* enfeksiyonların endemik olduğu ülkelerde, tesadüfen amip için pozitif dışkı olduğu saptanan asemptomatik hastaların sıklıkla *E. dispar* ile enfekte olduğu varsayılır ve daha fazla değerlendirilmez veya tedavi edilmez. *E. dispar* ve *E. histolytica* arasında ayırım yapabilen antijen testleri bu ülkelerde daha yaygın hale geldiğinden, bu uygulama değişebilir. *E. moshkovskii*'nin tedavi ihtiyacı belirsizdir; semptomatik enfeksiyonu tedavi etmek gerekir (440).

İnvaziv kolit genellikle metronidazol (alternatif tedaviler arasında tinidazol, ornidazol ve nitazoksanit bulunur), ardından intralüminal kistleri ortadan kaldırmak için bir lüminal ajan (paromomisin, diiodidrohidroksin veya diloksanid furoat gibi) ile beraber kullanılır. 10 günlük bir metronidazol tedavisi, birçok durumda intralüminal enfeksiyonu ortadan kaldırır. *E. histolytica* (*E. dispar* veya *E. moshkovskii* değil) asemptomatik hastalar tek başına intralüminal bir ajanla tedavi edilmelidir (441).

Metronidazol için tedavi dozu, yetişkinlerde 7 ile 10 gün boyunca günde üç kez oral 500 ile 750 mg ve çocuklarda 7 ile 10 gün boyunca günde üç kez 35-50 mg/kg'dır (442).

Metronidazole alternatifler arasında tinidazol (üç gün boyunca günde 2g ağız yoluyla) ve ornidazol bulunmaktadır ve %90-93 oranında tinidazol kür oranları gözlenmiştir (442).

Nitazoksanit alternatif bir ajan olarak önerilmiştir; klinik tedavi başarısızlığını azaltmada etkili olması muhtemeldir, ancak parazitolojik başarısızlığı önlemek için plasebodan daha etkili olmayabilir (432).

Yalnızca metronidazol ile karşılaştırıldığında, kombinasyon tedavisi daha az klinik ve parazitolojik başarısızlığa neden olabilir, ancak hangi kombinasyonun en etkili olduğu konusunda belirsizlik vardır (408).

Intralüminal enfeksiyon aşağıdaki rejimlerden biriyle tedavi edilebilir: paromomisin (7 gün boyunca üç bölünmüş dozda oral olarak günde 25-30 mg/kg), diiodohidroksikin (yetişkinler için 20 gün boyunca günde üç kez 650 mg ve 30 ile 40 mg/kg, çocuklar için 20 gün boyunca üç bölünmüş dozda günde) veya diloksanid furoat (yetişkinler için 10 gün boyunca günde üç kez 500 mg ve çocuklar için 10 gün boyunca üç bölünmüş dozda günde 20 mg/kg). *E. histolytica*ya bağlı şiddetli amebik kolit, hamilelik sırasında önemli morbidite ve mortaliteye neden olabilir. *E. histolytica*yı patojen kaynağı olarak doğrulamak önemlidir. *E. histolytica*ya bağlı hafif ile orta şiddette amebik koliti olan gebe kadınlar için paromomisin tedavisi verilir (443).

Bununla birlikte, şiddetli *amebik* kolitin tedavisinde paromomisinden kaçınılmalıdır, çünkü sistemik emilim riski ile bağırsak bariyerinin bozulmasına sebep olabilir. *E. histolytica*ya bağlı şiddetli amebik kolitli gebe kadınlar için metronidazol ile tedavi tercih edilmektedir. (442). Gebelikte metronidazol (ABD Gıda ve İlaç Dairesi gebelik kategorisi B) kullanımı tartışmalıdır; plasentayı geçer ve hızla fetal dolaşıma girer. Gebelikte metronidazolün güvenliğini gösteren iyi kontrollü bir çalışma yoktur; bu nedenle, sadece ciddi hastalıkların ortaya çıkmasında kullanılmalıdır (örneğin, annenin erteleme tedavisi ile ilişkili riskleri fetüse potansiyel zarardan daha ağır basarsa). Peritoniti bilinen veya şüphelenilen hastalarda geniş spektrumlu antibakteriyel tedavi uygulanmalıdır. Önemli bağırsak perforasyonu veya antibiyotik tedavisine cevap vermeyen apselerin belirlenmesinde cerrahi müdahale gereklidir. Zehirli megakolon genellikle kolektomi gerektirir (443).

1.4. Viral Diyare Etkenleri

1.4.1. Astrovirüs

1.4.1.1. Tarihçe

Appleton ve Higgins (444) 1975 yılında, kusma ve ishali olan çocukların gaitalarında elektron mikroskopisi (EM) kullanmış, 28 ile 30 nm partiküllerin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Yine 1975 yılında, Madeley ve Cosgrove (445), gastroenterit tanısıyla hastanede yatan bebeklerin gaitasında saptanan karakteristik yıldız benzeri bir görünüme sahip küçük yuvarlak virüsleri (“astron” Yunanca yıldız demektir) tanımlamak için *Astrovirüs* (*AstV*) terimini kullanmışlardır. Bu küçük virüsler, parçacıkları kaba, tüylü veya düzensiz olarak gruplandırılan “küçük yuvarlak yapılandırılmış virüsler” (SRSV) kategorisinden farklı olan “küçük yuvarlak virüsler” (SRV’ler) kategorisinde pürüzsüz kenara sahip diğer virüslerle birlikte yerleştirilmiştir (446).

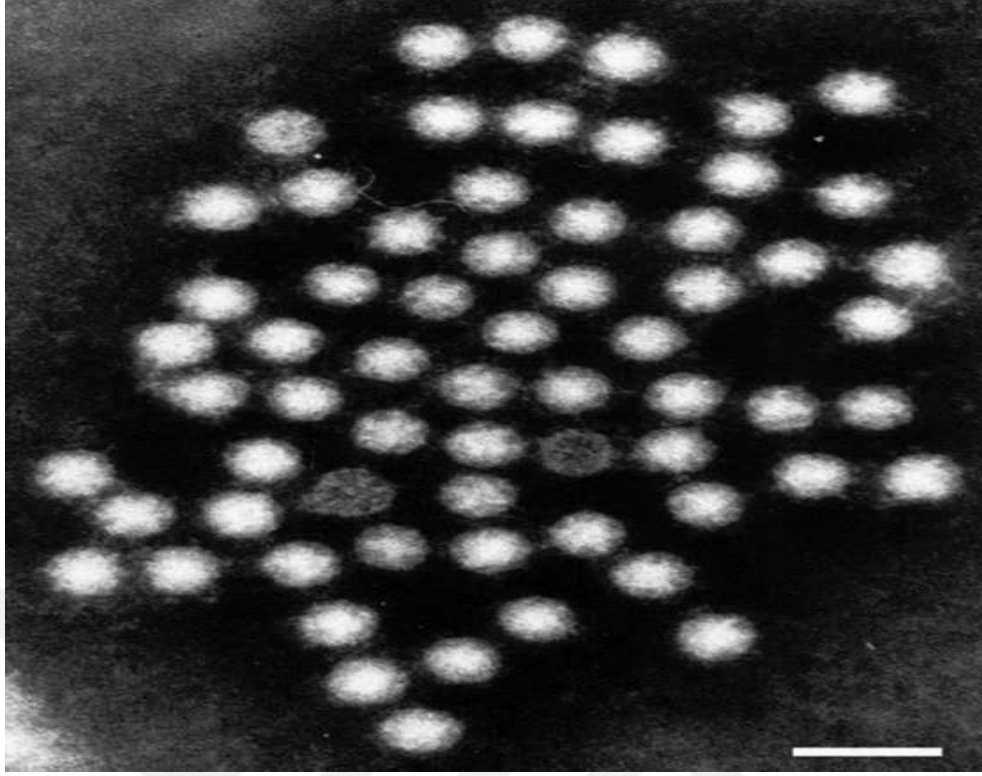
Astrovirüs’ün genomik ve subgenomik organizasyonu ve poliprotein yapısı, pozitif tek sarmallı RNA (ssRNA) virüsleri içinde *Picornaviridae* ve *Caliciviridae* ailelerinden ayrılan yeni *Astroviridae* ailesi olarak isimlendirilmelerini sağlamıştır

(447). 1995 yılında, Uluslararası Virüslerin Taksonomisi Komitesi (ICTV) kesin olarak *Astroviridae* ailesini tanımlamıştır (448). Başlangıçta, *Astroviridae* ailesi virion morfolojisine dayanan tek bir tür olan *Astrovirus*’tan oluşmuştur (448). Bununla birlikte daha sonra kaynak konakçılarına göre iki tür olarak sınıflandırılmıştır; sırasıyla memeli ve kuş türlerini enfekte eden *Mamastrovirus* (*MAstV*) ve *Avastrovirus* (*AAstV*). Son zamanlarda, *AstV*, daha önce tarif edilen 8 *HAstV* (Human Astrovirüs=İnsan Astrovirüsü) serotipi ile ilgisi olmayan, insanlar da dahil olmak üzere farklı hayvan türlerini enfekte edebilen farklı yeni *Astrovirüs*’lerin metagenomik gözetim çalışmalarından sonra bulunmuştur. İlk yeni *HAstV*’ler, 2008 yılında Melbourne, Avustralya’daki pediatrik dışkı örneklerinde tanımlanmıştır (449).

1.4.1.2. Morfoloji ve Sınıflandırma

1.4.1.2.1. Virion Yapısı

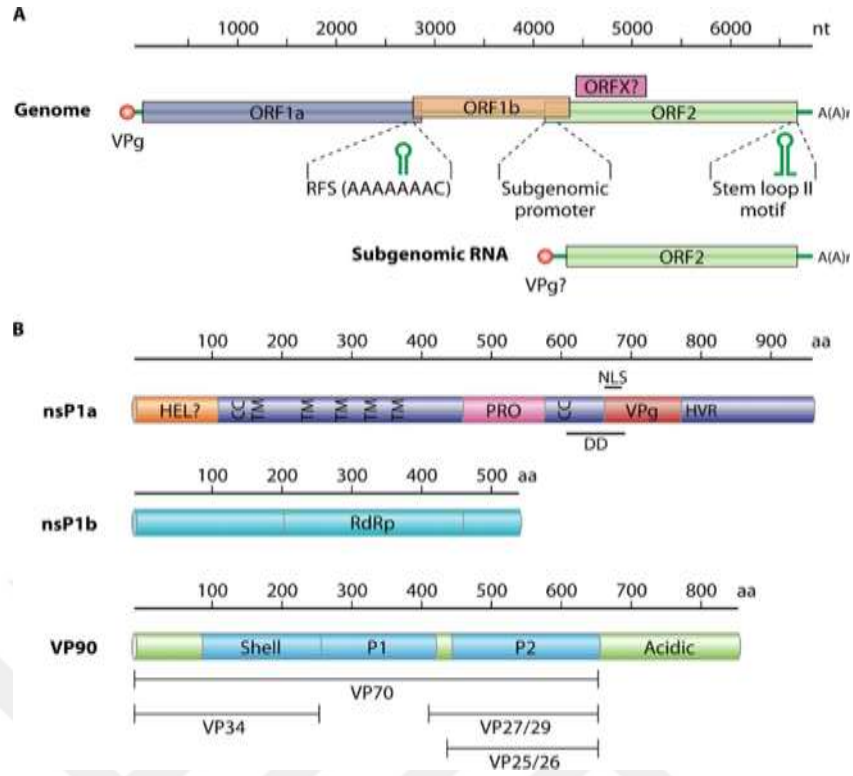
Astrovirüs, küçük, zarfsız ve bazı (yaklaşık %10) virionlarının yüzeyinde tanımlanan ayırt edici beş veya altı köşeli bir yıldızla sahip bir ikosahedral tek boğumlu bir RNA virüsüdür. EM bakışı ile dışkıda tespit edilen virüslerin boyutu 28 ile 30 nm çapındadır. *Astrovirüs*’ün EM bakışı ile gözlemlenen hali şekil 8’de verilmiştir (450). Hücre kültürlerinde üretilen virüslerin daha büyük, 41 nm dış çaplı olduğu ve belirgin çıkıntılı sivri uçlara sahip olmadığı, karakteristik yıldız benzeri bir görünüme sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yüzeyindeki yıldız benzeri şekil, parçacıkların alkali işlemden sonra gözlemlenebilir. Partikül çapının virüs kaynağına ve EM süspansiyonlarının numune için hazırlanmasına göre farklılaşabileceğine dair bilgiler mevcuttur (450).



Şekil 8. Dışkıda transmisyon immünoelektron mikroskopisi ile gözlemlenen insan Astrovirüs partikülleri, fosfotungstik asit ile negatif olarak boyanmıştır. Çubuk, 50 nm (450)

1.4.1.2.2. Genom Organizasyonu

Astrovirüs genomu, 3-uçtaki poliadenilatlı kuyruk hariç, yaklaşık 6,8 (6,2 ila 7,8) kb'lik bir pozitif ssRNA molekülüdür. Bir VPg proteini, genomun 5' ucuna kovalent olarak bağlıdır (451). Genom, 5 uçtan 3 uçlu ORF1a, ORF1b ve ORF2 olarak adlandırılan üç açık okuma çerçevesi (ORF) içerir. ORF1a ve ORF1b, RNA transkripsiyonu ve replikasyonunda yer alan yapısal olmayan proteinleri (nsP'ler) kodlarken, ORF2, bir subgenomik RNA'dan ekspresyonu gerçekleştiren yapı proteinlerini kodlar. *Astrovirüs* genomunun RNA üzerinden organizasyonu şekil 9'da şematik olarak gösterilmiştir (447, 452). Klasik HAsV'lerde ve diğer memeli AsV'lerinde, +1 okuma çerçevesinde ORF2'nin 5' ucuyla çakışan ORFX adı verilen yeni bir ORF tanımlanmıştır. ORFX'in sızdıran bir tarama mekanizması aracılığıyla çevrilebileceği öne sürülmüştür. Bu ORFX'in çeviri ürünü henüz deneysel olarak doğrulanmamıştır (453).



Şekil 9. Human (İnsan) Astrovirüs'ünün genom organizasyonu ve poliprotein ürünleri (452)

1.4.1.2.3. Yapısal Proteinler, Virionların Toplanması ve Hücre Yayın Ekspresyonu

Yapısal proteinleri muhtemelen VPG 5'-ucu bir mekanizma üzerinden -90 kDa poliproteini (VP90) olan alt genomik RNA'lar olarak meydana getirir (451). Hücre fraksiyonlama çalışmaları, yapısal protein sentezinin, replikasyon komplekslerinin oluşturduğu aynı hücre bölmelerinde gerçekleştiğini göstermiştir (454). *Human Astrovirüs* morfogenezinin modeli, VP90 poliproteininin başlangıçta C terminusundan hücre içi zarlarla ilişkili olarak olgunlaşmamış viryonlara birleştiğini ve birkaç hücrel kaspazın bu VP90 poliproteinlerinin, zarlardan ayrıldıktan sonra C terminlerine yakın bir şekilde parçalandığını ve bunun sonucunda oluşan viral kapsidlerin 70-kDa poliproteinlerine tutunduğu göstermiştir. (VP70) (454, 455). Enfekte hücrelerde, çekirdeğin çevresinde büyük miktarda çift membranlı vakuollerle çevrili virüs toplulukları gözlenebilir (454, 456). Son olarak, VP70 içeren viral partiküller hücrelerden salınır ve enfektiviteyi

arttırmak için tripsin ile proteolitik olarak işlenir. Virüslerin hücreden çıkması için VP90 ile VP70'in kaspazlarla işlenmesi gerekir ve VP70 partiküllerinin ortama salınması hücre lizis olmadan gerçekleşir (457). Hücrelerden virüs salınımı, kaspaz aktivitesine hücre ölümünün kendisinden daha bağımlıdır (457).

1.4.1.2.4. Replikasyon Döngüsü

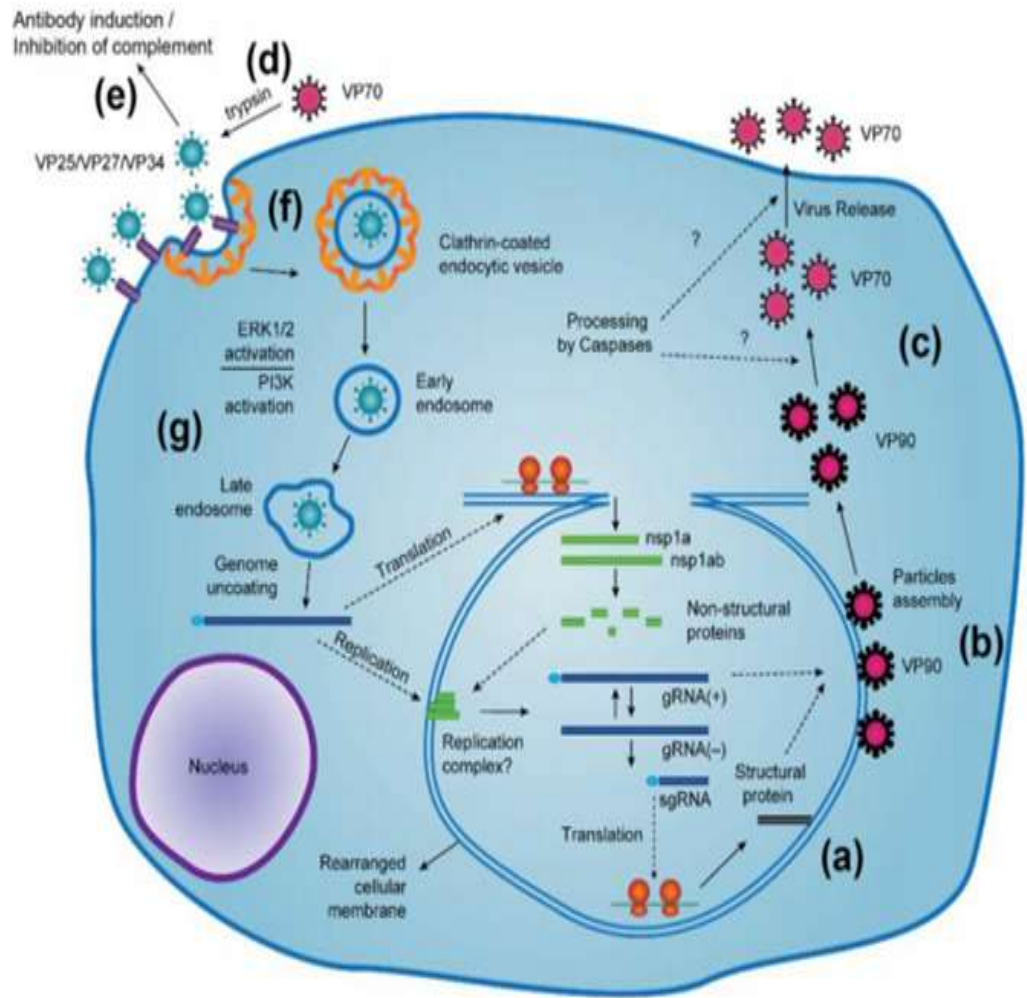
Astrovirüs'ün hücre reseptörü şu anda bilinmemektedir, ancak in vitro ve in vivo çoklu organ tutulumu için belirli bir serotipe özgü tropizme göre, *Astrovirüs*'ün birden fazla spesifik ortak bir reseptör presentonu kullanabileceği düşünülmektedir (458). Glikoprotein reseptörünün tanınması için tipik aminoasit düzenlemesi olan bir aktive bağlanma alanı mevcuttur (459). Hücre bağlanmasından sonra, *Astrovirüs* hücreye klatrin aracılı bir endositoz yoluyla girer. Vezikül daha sonra muhtemelen geç endozomlardaki filamentlerde sitoplazma yoluyla endoplazmik retikulumun (ER) yakınına kadar hareket ederek taşınır. Kesin mekanizma hala bilinmemekle birlikte, üretken virüs replikasyonu için gereklidir (460).

Geç veziküllerin asitleştirilmesi sitoplazmaya RNA genomunun aktarılmasını sağlar (460). VPg proteini, potansiyel olarak kalısivirüsler için tarif edilen eIF4E proteinlerinin alınması translasyonun başlatılması için gereklidir (461). Genomik RNA'dan proteinlerin translasyonundan sonra, RdRp ve nsP1a proteinlerinden oluşan bir viral replikaz kompleksi, enfeksiyondan 6-12 saat sonra negatif duyulan RNA genomunun sentezine izin verir (hpi). Negatif anlamda RNA suşu daha sonra 8 hpi'den başlayarak yeni genomik ve subgenomik RNA'nın transkripsiyonuna aracılık eder. 12hpi'de, 10 kat daha yüksek miktarda subgenomik RNA overgenomik RNA gözlenebilir (462).

Astrovirüs genom replikasyonu ER'den oluşturulan hücre zarları ile yakından ilişkili olan replikasyon kompleksinde meydana gelir (463). 48 hpi'de, çift zar vezikülleri ile ilişkili perinükleer boşlukta kapsid dizi taraması gözlenir (463). *Astrovirüs*'ün hücre içerisindeki replikasyon döngüsünün şematik gösterimi şekil 10'da verilmiştir (459).

Virüs hücresinde parçalanma için ayrıntılı mekanizmanın eksik olduğu, ancak VP 90 kapsid proteininin C-terminalinin asidik bölgesinin hücresel kaspazlar tarafından parçalanması gerektiği bilinmektedir (457).

Kaspaz aktivasyonuna ve nsP1a'da kaspaz aktivasyonunu ve hücre ölümünü tetikleyebilecek bir ölüm alanının tanımlanmasına rağmen, *Astrovirüs* enfeksiyonu sonrası apoptoz hala tartışılmaktadır. *Astrovirüs*'e ait kaspaz aktivasyonu şekil 11'de gösterilmiştir. Bu aktivasyon 8 saatten itibaren artmaya başlar ve enfeksiyondan 12 saat sonra en üst seviyeye ulaşır (455).



Şekil 10. Astrovirüs'ün replikasyon döngüsü (459).

1.4.1.3. Patogenez

Astrovirüs ile enfekte olmuş bağırsaklar nispeten anlamsız histolojik değişiklikler ve inflamasyon gösterdiğinden, virüs kaynaklı ishalin diğer mekanizmaları düşünülmüştür. Diğer enterik enfeksiyonlar tarafından ishal indüksiyon için açıklanan birincil mekanizmaları arasında bağırsak epitelinin yıkımı ve inflamatuvar yanıtlar *Astrovirüs* enfeksiyonunda rol oynamamaktadır. *Astrovirüs* enfeksiyonunun patogenezinde, bağırsağın absorpsiyon fonksiyonunun inhibisyonu, salgılama işlemlerinin aktivasyonu veya bağırsak epitelyal bariyer geçirgenliğinin kaybı ile beraber sıvıların ve elektrolitlerin hızlı kaybı izlenir (465, 466).

Astrovirüs enfeksiyonunda bağırsak yüzeyinde villöz küntleşme, düzensiz yüzeysel epitel hücrelerinin ve lamina propriada inflamatuvar hücre yoğunluğunun artışı görülür. Viral replikasyon, çoğunlukla jejunal ve duodenal biyopsi örneklerindeki villus uçlarında yüzey epitel hücrelerine hedeflenmiştir. Semptomatik hayvanlarda ultrastrüktürel çalışmalar deneysel olarak enfekte olmuş kuzular, buzağılar ve hindilerde yapılmıştır. Deneysel olarak enfekte olmuş kuzular ince bağırsakta villus atrofi göstermiştir (459, 467). *Astrovirüs*'ler, ince bağırsak ve makrofajların villusundaki sadece olgun enterositleri (virüsler parakristalin dizilerde, mikrovillus boyunca ve lizozomlar ve otofajik vakuollerde) enfekte etmiştir (459, 467). Enfekte enterositlerin bağırsakta süzüldüğü gözlenmiş ve enfeksiyondan 5 gün sonra villus normal görülmüştür. Kolonda enfekte olmuş hücreler gözlemlenmeden jejunum ve ileumda lezyonlar gözlenmiştir (459).

Sığır virüsünün çoğunlukla jejunal ve ileal peyer yamalarının kubbe villusunu kaplayan epitelyumu enfekte ettiği bulunmuştur. Kubbe epitelyumunun hem M hücreleri hem de emici enterosit hücreleri virüs içerir ve enfekte olur, M hücrelerinin mikrovillusları genellikle ciddi şekilde kısalmaktadır (468).

1.4.1.4. Epidemiyoloji

Human Astrovirüs'ler fekal-oral yolla bulaşır (469). Yiyecek, su ve insan enterik virüs bulaşması için bir araç görevi görebilir (470). Yüzey suları ve yeraltı suları kamu tüketimi için içme suyu kaynakları olarak kullanılırsa, zayıf su kalitesi

önemli bir sağlık tehdidi olarak kabul edilmektedir. DSÖ, küresel gastroenterit yükünün neredeyse %90'ının güvensiz su ve zayıf sanitasyon ve hijyene atfedilebileceğini tahmin etmektedir; gelişmekte olan bölgelerdeki pediyatrik nüfus bulaşa karşı en savunmasız gruptur (471). Klor ve diğer dezenfektanlar rutin olarak içme suyu arıtımı için kullanılırlar ve *Human Astrovirüs*'lerin su içinde inaktivasyonu için etkilidirler (472). Uygun olmayan gıda kullanımı ile kötü hijyen uygulamaları genellikle gıda ürünlerinin, özellikle de pişmemiş veya hafif pişmiş olarak tüketilen salatalar, sandviçler ve şarküteri eti gibi yemeye hazır yiyeceklerin kontaminasyonundan sorumludur. *Human Astrovirüs*'ler çocuklarda ve yetişkinlerde asemptomatik enfeksiyonlara neden olur (473) ve asemptomatik gıda işçileri gastroenterit salgınlarında semptomatik gıda işleyicilerinden daha sık tespit edilir (474). Antiseptikler ve dezenfektanlar, sırasıyla cilt (özellikle eller) taşıyıcılar üzerindeki patojenlerin inaktivasyonu için kullanılmalıdır. *Human Astrovirüsler* ağırlıklı olarak pediyatrik popülasyonu (475) etkilemekle birlikte, yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış konakçılarda enfeksiyonlar da rapor edilmektedir (476). Ek olarak, *Astrovirüs* gastroenteriti de sağlıklı yetişkinleri etkileyebilir (477). Klasik *Human Astrovirüs*'ler ile enfekte çocukların yaşı, yeni doğanlardan 5 yaşına kadar oldukça değişkendir (478); ancak, enfeksiyon 2 yaşından küçükler arasında daha yaygındır. Klasik *Human Astrovirüs*'ler tüm dünyaya dağılmıştır ve %61'e varan insidanslar bildirilmiş olmasına rağmen, çocuklarda akut, bakteriyel olmayan diyare vakalarının %2-9'uyla ilişkilidir (479). Dünya genelinde ortalama görülme sıklığı %11, kentsel ve kırsal alanlarda sırasıyla %7 ve %23'tür (480). Klasik *Human Astrovirüs*'lerin dağılımı, soğuk havalarda ılıman bölgelerde daha yüksek enfeksiyon insidansına sahip mevsimsel bir patern izler ve sıcak hava döneminde vaka sayısında dramatik bir düşüş olmasına rağmen *Human Astrovirüs*'ler yıl boyunca dolaşmaya devam eder ve enfeksiyonlar yaz aylarında da meydana gelir (481).

1.4.1.5. Klinik

Human Astrovirüs'leri, özellikle klasik *Human Astrovirüs* 'leri dünya çapında çocukları etkileyen gastrointestinal patojenler olarak kabul edilir ve normal sağlıklı yetişkinlerde *Human Astrovirüs* 'leri aracılı hastalıklara ilişkin çok az sayıda rapor vardır (482). Klasik *Human Astrovirüs* 'leri, küçük çocuklar arasında viral gastroenteritin üçüncü en yaygın nedenidir, bakteriyel olmayan vakaların % 2-9'unu açıklar (464). Serolojik çalışmalar, çoğu çocuğun *Human Astrovirüs* 'leri ile enfekte olduğunu ve erken yaşta virüse karşı antikor geliştirdiğini göstermektedir (483). Bağışıklığı baskılanmış kişiler ve yaşlılar da yüksek riskli grupları temsil etmektedir. Tipik olarak, *Human Astrovirüs* enfeksiyonu, kusma, ateş, anoreksiya ve karın ağrısı ile ilişkili, 2 ile 3 gün süren hafif, sulu bir ishali indükler. Kusma *Astrovirüs* enfeksiyonunda *Rotavirüs* veya *Kalısivirüs* enfeksiyonundan daha az yaygındır ve *Human Astrovirüs* enfeksiyonları da daha uzun bir kuluçka dönemi gösterir. Bir çocuk bakım merkezinde yetişkin gönüllü çalışmalarından ve gastroenterit salgınlarından elde edilen verilere dayanarak, *Human Astrovirüs* enfeksiyonlarının ortalama kuluçka süresi 4-5 gün olarak hesaplanmıştır (484). Genel olarak *Human Astrovirüs* ishali, *Rotavirüs* 'lerin veya *Norovirüs* 'lerin neden olduğu hastalıklardan daha hafiftir ve bazı durumlarda *Human Astrovirüs* enfeksiyonlarının hastaneye yatırılmasını gerektirmesine rağmen kendiliğinden düzelir. Asemptomatik enfeksiyonlarda çocuklar ve yetişkinler tanımlanmıştır (485). İmmün yetmezliği olan durumlar nedeniyle, enfeksiyon kalıcı olabilir ve/veya yayılabilir (486). Altı ile dokuz yaşlarında %94'e ulaşabilen bir seroprevalansı ile *Human Astrovirüs*-1 en fazla gözlenen serotiptir, *Human Astrovirüs*-6 ve *Human Astrovirüs* -7 nadiren tanımlanır. *Human Astrovirüs* -3'ün %16 ve %10 seroprevalansı ile kronik ve daha ciddi enfeksiyonlarla daha sık ilişkili olduğu görülmektedir (487).

Dikkat edilmesi gereken, *Human Astrovirüs* bazen solunum örneklerinde tanımlanmıştır veya solunum semptomları ile çakışmıştır ancak *Human Astrovirüs* ve solunum hastalığı arasında açık bir ilişki hala açıklanamamıştır. Klasik *Human Astrovirüs* enfeksiyonlarının da sistemik olarak yayılabileceği ve yüksek derecede

bağıışıklık sistemi baskılanmış çocuklarda ciddi yaygın ölümcül enfeksiyonlara neden olabileceğı gösterilmiştir (488).

1.4.1.6. Tanı

Astrovirüs'ün neden olduğı enfeksiyonların laboratuvar tanısı klinik örneklerde (dışkı, rektal sürüntü) partiküllerin veya viral genomun saptanması ile koyulur.

Tespit ve karakterizasyonda çeşitli yöntemler kullanılabilir. Elektron mikroskopisi (EM), elektronik immünomikroskopi (IME), immünoenzimatik analiz (EIE), lateks aglütinasyon, hücre kültürleri kullanılarak yapılabilir. Her yöntemin kendine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur. EM veya IME teknikleri kullanılarak fekal örneklerde *Astrovirüs* partiküllerinin saptanması hızlı bir prosedürdür (445).

Elektron mikroskopisi (EM) klinik örneklerde *Astrovirüs* tespit etmek için tercih edilen yöntemdir. EM ile *Astrovirüs*'ün adını aldığı karakteristik yıldız görünümüne izlenebilmektedir. *Astrovirüs* 28-30 nm büyüklüğündedir. EM'nin viral enfeksiyonların teşhisi için altın standart olmasına rağmen rutin tanıda kullanımı kısıtlıdır. Ayrıca, *Astrovirüs* parçacıklarının sadece %10'u tipik yıldız benzeri bir şekil gösterir ve bu nedenle olası diğer enterik virüslerle karışarak yanlış tanı konulabilir (489).

İmmünoenzimatik yöntemler, *Astrovirüs* tanısını büyük ölçüde geliştirmiş, %100 hassasiyet ve %98 özgüllük ile dışkı virüs partiküllerine kadar tespit olanağı sağlamıştır. RT-PCR testinin, 15-20 dakika içinde hızlı tanıya olanak sağlayan immünokromatografik yöntemle göre hassas (%100) ve spesifik (%91,2) olduğu gösterilmiştir (490).

RT-PCR analizleri ELISA ve EM'nin hassasiyetini artırmıştır ve günümüzde *Human Astrovirüs* tespiti için referans yöntemdir. Tüm klasik *Human Astrovirüs* serotiplerini veya farklı serotipler için spesifik RT-PCR analizlerini ("tipe özgü") alır. Geleneksel RT-PCR tahlilleri, dışkının bir gramında 10-100 genom kopyasını saptayabilmektedir (490).

1.4.1.7. Tedavi

Human Astrovirüs enfeksiyonlarının önlenmesi temel olarak iletim yollarının kontrolüne ve konakçı seviyesinde hastalığın önlenmesine ve kontrolüne dayanır. İletim yollarının kontrolü, su ve gıdalarda virüs tespiti ve inaktivasyonunu ve kontamine fomitlerin dezenfeksiyonunu içerir (491).

Konakçıda hastalık gelişiminin önlenmesi, bağırsak mikrobiyotası gibi doğal savunmaların aşılmasını ve güçlendirilmesini içerir (492). Farklı sistemlerde virüs benzeri partikül (VLP) üretiminin çeşitli açıklamalarına rağmen *Human Astrovirüs*'ler için hiçbir aşı geliştirilmemiştir (493). Ciddi gastroenteritten muzdarip hastalara (küçük çocuklar veya yetişkinler) uygulanan normal terapi, dehidrasyonu önlemek için oral veya intravenöz sıvı replasmanından oluşur. Şiddetli veya kalıcı ishalli immün yetmezliği olan konakçılar için IgG ile intravenöz tedavi de önerilmiştir, ancak bu tedavinin etkinliği henüz kesinleşmemiştir (494).

1.4.2. Norovirüs

1.4.2.1. Tarihçe

İlk zamanlarda *Norwalk* virüsü olarak tanınan insan *Norovirüs*'ü ilk olarak Norwalk (495), gastroenterit salgını sırasında toplanan dışkı örneklerinde tanımlanmıştır ve gastroenterite neden olduğu gösterilen ilk viral ajandır. Bu virüse bağlı hastalık ilk olarak 1929 yılında kış mevsimini tercih etmesi ve birincil semptom olarak kusma hastalarda sık görülmesi nedeniyle “kış kusması hastalığı” olarak tanımlanmıştır (496).

Virüsün tanımlanmasına yol açan 1968 salgını, Norwalk'daki bir ilkokuldaki öğrencilerin %50'sini etkilemiş ve öncelikle bulantı, kusma, ishal ve düşük dereceli ateş olarak klinik vermiştir. Birincil olguların %98'inde bulantı, %92'sinde kusma görülürken, %58'inde karın krampları, %52'sinde uyuşukluk, %38'inde ishal ve %34'ünde ateş görülmüştür. Aile temaslarının %32'sinde ikincil vakaların ortaya çıkması 48 saatlik bir inkübasyon süresi olduğunu düşündürmüştü, hastalık yaklaşık 24 saat sürmüştü ve tüm vakalar da tamamen düzelmiştir (497).

İnsan *Norovirüs* 'leri tüm yaş gruplarında epidemik gastroenteritin önde gelen nedenidir ve hastanelerde, huzurevlerinde, yolcu gemilerinde ve askeriyede yüksek profilli salgınlarla ilişkilendirilmiştir (498). Her yıl, *Norovirüs* 'lerin hastaneye yatmayı gerektiren 64.000 diyare vakasından, sanayileşmiş ülkelerdeki çocuklar arasında 900.000 civarı hastadan ve gelişmekte olan ülkelerdeki 5 yaşın altındaki yaklaşık 200.000 ölümden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (499).

1.4.2.2. Morfoloji ve Sınıflandırma

1.4.2.2.1. Taksonomi ve Virüsün Yapısı

Uzun yıllar yapılan denemelere rağmen hücre kültürlerinde üretilemeyen (500) ve ancak 2016 yılında bildirilen bir çalışmayla bazı genotiplerinin kök hücre kaynaklı insan intestinal enteroid hücrelerinde üretilbildiği bildirilen (501) insan *Norovirüs* 'ünün ilk olarak protein yapısının benzerliği nedeniyle *Caliciviridae* ailesine ait olduğu düşünülmüştür (502).

Yapılan ilk çalışmalarda en az 7,5 kb uzunluğunda tek zincirli pozitif polariteli bir RNA virüsü olduğu tanımlanan *Norwalk* virüsünün *Caliciviridae* ailesine ait olduğu nükleik asit çalışmalarıyla da desteklenmiştir (503).

Caliciviridae ailesi; zarfsız, izometrik şekilli, 35-40 nm boyutlarında, ikozahedral simetrik kapsit yapısına sahip, tek zincirli, pozitif polariteli RNA virüsleridir (504). *Norovirüs* 'ün EM ile görünümü şekil 12'de verilmiştir (503). ICTV (Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi) sınıflamasına göre *Caliciviridae* ailesi şu an için *Norovirüs*, *Sapovirüs*, *Lagovirüs*, *Nebivirüs* ve *Vesivirüs* adları verilen beş cinsten oluşmaktadır (505).

1.4.2.2.2. Genomik Yapısı

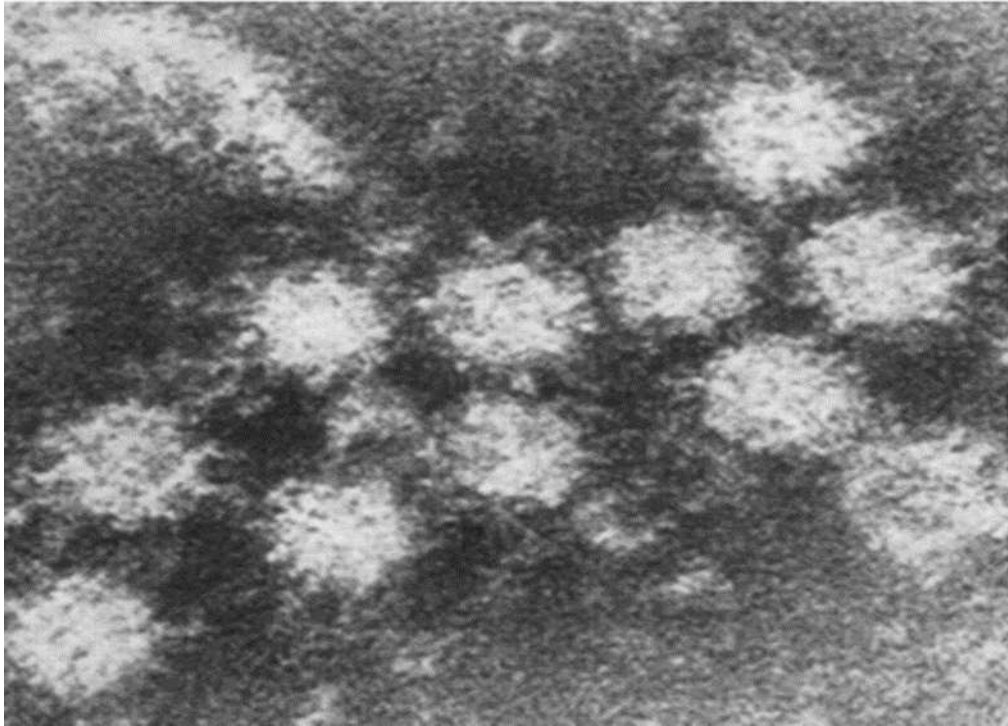
Norovirüs genomu 7,3-7,5 kb uzunluğunda pozitif polariteli, lineer, tek zincirli bir RNA molekülünden oluşmaktadır. 3' ucu poliadenile olan genomik RNA 5' ucuyla virüs tarafından kodlanan ve VPg adı verilen proteine kovalent olarak bağlıdır. İnsan *Norovirüs* genomu ORF-1, ORF-2 ve ORF-3 olmak üzere üç adet korunmuş ORF bölgesi içermektedir.

ORF-1: RNA'ya bağı RNA polimerazlar ve helikazlar gibi yapısal olmayan proteinler

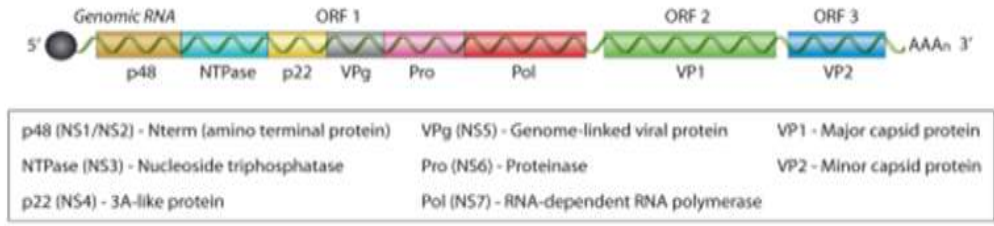
ORF-2: Yapısal proteinler

ORF-3: İşlevi belli olmayan küçük bir proteini kodlamaktadır (506).

RNA bağımlı RNA polimeraz enzimini de içeren ve posttranslasyonel olarak an az 7 yapısal olmayan proteine ayrılan bir poliprotein translasyonu gerçekleştirmektedir. Majör kapsit proteini VP1 ve minör kapsit proteinİ VP2 ise sırasıyla ORF-2 VE ORF-3 bölgeleri tarafından sentezlenmektedir. Virüsün ikozahedral simetrlili kapsit yapısını 90 VP1 ve birkaç VP2 dimeri oluşturmaktadır (507). *Norovirüs*'ün genomik yapısının şematik gösterimi şekil 13'te verilmiştir (507).



Şekil 12. Norovirüs'ün elektron mikroskop ile görünümü (503)



Şekil 13. Norovirüs'ün genomik yapısı (507)

Norovirüs'ler zarfsız olup, zarflı virüslere kıyasla daha dirençli bir yapısı bulunmaktadır. Aside, etere, kloroforma, klorine (<10 ppm) ve soğuğa dayanıklıdır ve 60°C'ye kadarki sıcaklıklarda da yaşayabilmektedir. Klorla (≥ 10 mg/L) bütünüyle, %70 alkol ile nispeten inaktifte olmakta ve dezenfektanlara *Enterovirüs*'lere kıyasla daha dayanıklıdır (508).

1968 yılında Norwalk'ta gerçekleşen salgın sonrası Snow Mountain, Hawaii, Montgomery gibi başka yerlerden de benzer klinik ve epidemiyolojik özelliklere sahip salgınlar bildirilmiş ve bu salgınlardaki etkenlerin farklı antijenik yapılarda oldukları bildirilmiştir (509). Viral partiküllerin moleküler karşılaştırmaları yapıldığında da virüs genomunda kapsit yapısını kodlayan bölümün bu farklılığa neden olduğu düşünülmüştür (510).

Günümüze değin yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda tamamlanmış kapsit gen dizilimine göre 7 genogrup (G) tanımlanmıştır. İnsanlarda hastalık yapan genogruplar büyük oranda GI ve GII olup, az sayıda epidemik ve sporadik vakada GIV saptanmıştır. GIII sığırlarda, GV farelerde, GVI ve GVII ise köpeklerde saptanmış olup (510), 7GIII'e karşı oluşan antikorların da insanlarda varlığı bildirilmiştir (511). Ayrıca yarasalarda yapılan bir çalışmada izole edilen bir virüsün GVIII olabileceği bildirilmiştir (512). Yapılan moleküler çalışmalarla genogruplar içerisinde genetik kümelenmeler tespit edilmiş (513) ve genogruplar içinde genotipler tanımlanmıştır (510). Günümüze değin GI içerisinde dokuz genotip, GII içerisinde üçü (GII.11, GII.18, GII.19) sadece domuzlarda olmak üzere 22, GIII içerisinde üç, GIV, GV ve GVI'da iki ve GVII'de bir genotip tanımlanmıştır (514).

1.4.2.3. Patogenez

Norovirüs'ler, insan vücuduna oral yolla giriş yaparak mide pH'ından etkilenmeyip ince bağırsağa geçmektedirler. Virüsün kopyalanması ince bağırsağa ait mukozal epitelde meydana gelmektedir. Viral üreme sonrasında ince barsak enterositlerinde tahribat oluşarak villuslarda düzleşme, lamina propriada yuvarlak hücreler ve nötrofil infiltrasyonu görülür. Histopatolojik değişiklikler hastalığın ilk 24 saatinde görülmeye başlar ve 2 hafta içinde düzelme gözlenir. *Norovirüs*'e bağlı isihalde geçici D-ksiloz ve yağ Emilimi bozulur, hastalık süresince sıvı sekresyonu artar fakat *Norovirüs*'e ait enterotoksin oluşmaz. Virüsün uyardığı ishal ve kusmanın etyopatogenezi tam olarak anlaşılmış değildir (515).

Norovirüs gastroenteritinde 24 saatlik inkübasyon sonucunda klinik semptomlar baş göstermektedir (516, 517). Yapılan çalışmalarda, barsak epitelinde doku kan grubu antijenleri taşımakta olan bireylerle kan grubu 0 olan bireylerin genotip açısından hastalığa daha hassas oldukları belirlenmiştir (518, 519). *Norovirüs* oldukça enfeksiyöz olup, enfekte olan kişiler hastalığın belirtileri başladığı zamandan itibaren etkeni yaymaya başlamaktadır ve iyileşme sonrasında iki hafta süresince bulaştırıcılığı devam etmektedir. Virüsün enfeksiyöz dozunun düşük oluşu (<10), genotipik farklılığın yüksek olmasıyla çevresel faktörlere mukavemetli olmasından dolayı hastalık hızlı bir şekilde yayılmaktadır ve genellikle reinfeksiyonlara rastlanmaktadır (520, 521).

İnsanlarda enfeksiyon sonrasında koruyuculuğu 2–6 ay kadar devam eden bir bağışıklık oluşmakta fakat kısmi bir immünite sürmektedir. *Norovirüs* enfeksiyonlarında uzun süreli ve bütünüyle bir immünite meydana gelmediği için, hastalığı atlatanlar 2 veya 3 sene içinde etken ile karşılaştıklarında bağırsaklar büyük bir alan kapladığından, intestinal mukozadaki antikorların aracılık etmiş olduğu hücresel ve humoral bir bölgesel defans ön planda olmaktadır ve bu durum bağışıklık araştırmalarında profilaksinin tabanını oluşturmaktadır. Virüsle alakalı olarak yürütülen immünolojik araştırmaların büyük bir bölümü gönüllü insanlarla yapılmaktadır (522, 523).

1.4.2.4. Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC), her yıl ABD’de akut gastroenterit vakalarının %60’ından veya 21 milyon vakadan *Norovirüs*’ün sorumlu olduğunu tahmin etmektedir. Moleküler yöntemlerin eklenmesiyle, *Norovirüs* sporadik hastalıkta giderek daha fazla rol oynamaktadır (516). Revers transkriptaz PCR (RT-PCR) ile tespit edilen tüm *Norovirüs* raporlarının sistematik olarak gözden geçirilmesi, hastaneye yatırılan hastalarda gastroenterit vakalarının %5-31’ini ve *Norovirüs* için ayaktan takip edilen tüm hastaların %5-36’sını kapsadığı görülmüştür (516). CDC tarafından, yıl boyu acil servise yapılan 400.000 hasta girişinden ve hastaneye yatışı ile sonuçlanan 71.000 hastadan *Norovirüs* ’ün sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (524).

Genel popülasyon, tüm yaş gruplarında hastalık izlenebilir, ancak morbidite ve mortalitenin çoğunluğunu, bebekler ve yaşlılar oluşturur. Fekal-oral yol ana bulaşma şeklidir, ancak başka yöntemler de tanımlanmıştır. Bu yöntemler arasında, kusmukta aerosol haline getirilmiş viral partiküller ve yiyecek, su ve çevresel kontaminasyon yoluyla bulaşma da yer alır. Bazı çalışmalar belirli *Norovirüs* genotiplerini belirli bulaşma modlarıyla ilişkilendirmiştir (525, 526). Örneğin, 2009’dan 2013’e kadar ABD’deki *Norovirüs* eğilimlerini inceleyen Vega ve meslektaşları, GII.4’ün, özellikle uzun süreli bakım tesislerinde kişiden kişiye bulaşma ile daha fazla ilişkili olduğunu göstermiştir. GI.7 ve GII.12, gıda kaynaklı hastalıklarla daha sık ilişkili bulunmuştur (527). *Norovirüs*’ün çevresel dayanıklılığı, klinik ortamlarda ve diğer kapalı alan ortamlarında patojenin kalıcılığına yol açar, böylece tam dezenfeksiyonunu zorlaştırır ve tekrarlayan salgınlara neden olur (528).

1.4.2.5. Klinik

Asemptomatik olarak seyredabilen hastalığın sadece az gelişmiş ülkelerde değil gelişmiş ülkelerde de olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Asemptomatik bir taşıyıcıdaki başka bir nedene bağlı ishal, *Norovirüs* enfeksiyonuna bağlı olarak yanlış teşhis edilebilir. Taşımacılığın da epidemiyolojik etkileri vardır. Güney Kore’de yapılan bir çalışmada, 6.441 (% 1,02) asemptomatik gıda işleyicisinin 66

dışkı örneğinde *Norovirüs* tespit edilmiştir (529). Asemptomatik taşımanın bir olumsuz sonucu, virüs varlığı açısından taranmamış olan asemptomatik donörlerden elde edilen dışkı örnekleri kullanılarak *Norovirüs*'ün fekal mikrobiyota transplantasyonu ile bulaşına neden olmuştur (530).

Virüsün kuluçka periyodu 24–48 saat arasında değişmektedir. Klinik semptomlar sıklıkla 12–72 saat devam etmekte fakat, virüs 2–3 hafta süresince hastanın dışkısıyla yayılabilmektedir (531). *Norovirüs* gastroenteritinde sık rastlanan semptomlar abdominal kramplar, bulantı, kusma ve sulu/kansız ishaldir. Bunlar birdenbire veya kademeli olarak ortaya çıkmakta, erişkinlerde mukus olmadan ve kansız ishal şeklinde, çocuklarda ise karın ağrıları, bulantı ve kusma şeklinde rastlanmaktadır. Hastanede gelişen salgınlarda, bilhassa 11 yaşın altındaki çocuk hastalarda hastalık daha uzun sürebilmektedir (4 ile 6 gün). 1 yaşın üzerindeki bebekler ve çocuklarda kusma daha sık; 1 yaşından küçük bebeklerde ise ishale daha sık rastlanmaktadır. Akut gastroenteritte bu klinik semptomlara ek olarak baş ağrısı, tremor, bireylerin %25 ile %50'sinde kas ağrıları ve %37 ile %45'indeyse 24 saat devam eden ateşe (38–39°C) rastlanabilmektedir (532). Çocuklar, yaşlılar, immünsupresif hastalar, nekrotizan enterokoliti olan ve çocuk onkoloji hastalarında enfeksiyonlar ağır seyredebilmekle beraber sıklıkla vakalar hafif seyretmekte ve ölüm bazen meydana gelebilmektedir (516).

1.4.2.6. Tanı

Geçmişten günümüze *Norovirüs* enfeksiyonlarının klinik ve epidemiyolojik özelliklerinden faydalanarak, elektron mikroskopisiyle, antijen antikor ilişkisine dayalı ve moleküler yöntemlerle tanısı konulmaya çalışılmıştır.

1.4.2.6.1. Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklere Dayanan Tanı Kriterleri

Kaplan ve ark. (533) 1982 yılında *Norovirüs* salgınlарının klinik ve epidemiyolojik profili temelinde dört kriter belirlemişlerdir:

1. Dışkı örneklerinin bakteriyel ve yapılyorsa parazitik yönden incelenme sonucu negatif olmalı
2. Vakaların %50 veya fazlasında kusma görülmeli

3. Ortalama hastalık süresi 12-60 saat arasında olmalı
4. Ortalama inkübasyon süresi 24-48 saat olmalı

2006 yılında bu kriterlerin tekrar değerlendirildiği bir çalışmada kriterlerin yüksek özgüllükte (%99), orta düzey duyarlılıkta (%68) olduğu ve tanı testleri yaygın olarak kullanılabilecek kadar *Norovirüs* etkenli gıda kaynaklı salgınların tespitinde geçerli bir yöntem olduğu bildirilmiştir (534). Sonuç olarak laboratuvar testlerine ulaşımın sınırlı olduğu veya örnek elde etmenin mümkün olmadığı durumlarda bu kriterlerin kullanımının tanıya yol gösterici olacağı bildirilmektedir (516).

1.4.2.6.2. Elektron Mikroskopisi

Norovirüs'ün ilk tanımlanması elektron mikroskopisiyle gerçekleşmiş ve bu yöntem *Norovirüs* genomunun sekans analizi yapılabilecek virüs tespitinde temel yöntem olmuştur. Alternatif yöntemlerin yokluğunda salgınların etiyolojisini aydınlatmak için kullanılan bu yöntemin diğer viral partiküllerin görülmesine imkan sağlaması gibi kısmi avantajları mevcut olsa da donanım gerekliliği, maliyetinin yüksek ve duyarlılığının düşük oluşu gibi yaygın kullanımını etkileyen dezavantajları vardır (510).

1.4.2.6.3. Norovirüs Antijen Tespiti

Antijen tespitine dayalı tanı yöntemleri kullanım kolaylığı açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Bu prensibe dayalı tanı yöntemleri geçmiş yıllardan itibaren farklı işaretleme metotları geliştirilerek *Norovirüs* tanısında kullanılmıştır (535).

1.4.2.6.4. Enzim İmmünoassay

Ticari olarak geliştirilmiş olan birçok enzim immünoassay yöntemi dışında *Norovirüs* GI ve GII antijenlerinin tespiti için kullanılmaktadır (536). Bu yöntemin geliştirilmesinde karşılaşılan güçlüklerden biri çok sayıda *Norovirüs* genotipini kapsama durumu olup, bir diğeri de bazı suşlarda görülen antijenik değişikliklerdir (510). Genogruplara spesifik monoklonal antikorlar tanımlanmış olsa da ticari kitlerde genellikle bir kaç çapraz reaktif monoklonal ve poliklonal antikor kombinasyonları kullanılmıştır. Kitlerin duyarlılık ve özgüllükleri; salgın veya

sporadik vakalarda kullanımı, alınan örnek sayısı, belirtilerin başlangıcından örnek toplanmasına kadar geçen süre gibi durumlara bağlı olarak değişkenlik gösterse de genellikle özgüllükleri %90'ın üzerinde, duyarlılıkları ise %70'in altındadır (510). Farklı ticari kitlerin referans moleküler yöntemle kıyaslandığı çok sayıda çalışma mevcut olup, bu çalışmaların topluca incelendiği bir derlemede yöntemin duyarlılığının %31,6-%92, özgüllüğünün ise %65,3-%100 aralığında olduğu bildirilmiştir (536). Bu geniş duyarlılık aralığına dışındaki viral yük, kullanılan antikorun farklı genotiplerle gerçekleşen enfeksiyonlarda gösterdiği affinite farklılığı, örneklerin alınma zamanı, çalışmaya dâhil edilen hasta grubu (pediatrik, erişkin gibi), hasta grubunun salgın veya sporadik vakalardan oluşması gibi çeşitli faktörlerin neden olabileceği belirtilmiştir (536). Avrupa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada bu yöntemlerin, salgınlar gibi çok sayıda örnek alınması gereken durumunda duyarlılıklarının arttığı bildirilmiştir (537). Yine benzer sonuçlar elde edilen bir diğer çalışmada bu tanı metodunun salgınlarda çok sayıda örnek olarak tarama yöntemi olarak kullanılabileceği ancak sporadik vakaların moleküler yöntem kullanılarak tespit edilmesi gerektiği bildirilmiştir (538).

Sonuç olarak enzim immünoassay yöntemi kolay uygulanabilir, özel laboratuvar koşulları gerektirmeyen, kısa sürede sonuç veren ancak duyarlılıkta yaşanan sıkıntılar nedeniyle daha çok salgınlarda kullanılması önerilen bir yöntemdir (536).

1.4.2.6.5. İmmünokromatografik Yöntemler

İmmünokromatografi; enzim immünoassay yöntemine benzer prensiple çalışmakta olan ve yine yüksek özgüllük gösteren, çok kolay uygulanabilen, 15 dakika gibi kısa bir süre içerisinde sonuç verebilen bir tanı yöntemidir (510). Bu yöntemle çalışan, GI ve GII genogrup antijenlerini tespit etmeye yönelik birçok ticari kit mevcuttur. EIA yöntemi ile benzer şekilde moleküler yöntemle yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda geniş aralıklı duyarlılık yüzdeleri (%17-%90,2) bildirilmiştir (536). Dört ayrı ticari kitin moleküler yöntemler ile karşılaştırıldığı bir çalışmada grup spesifik duyarlılık yüzdeleri verilmiştir. Özellikle GI için daha düşük duyarlılık yüzdeleri tespit edilirken, GII için bildirilen en yüksek duyarlılık yüzde %64'tür (539). Sonuç olarak immünokromatografi yönteminin pozitif

sonuçlar için kabul edilebilir ancak negatif sonuçlar için nükleik asit amplifikasyon testleri ile doğrulanması gereken bir yöntem olduğu kanısı oluşmuştur (536, 539).

Bu tanı metotlarının yanında immünolojik yöntemlerle ilgili gelişmeler halen devam etmektedir, örneğin 2018 yılında yayınlanan bir çalışmayla floresan partiküllerle işaretlenmiş şerit test (strip test) ile kullanılan referans yönteme göre daha düşük viral yüklerin tespit edildiği bildirilmiştir (540).

2.4.2.6.6. Moleküler Tanı Yöntemleri

Norovirüs'n genomik yapısının aydınlatılmasının ardından gelişen moleküler yöntemlerin *Norovirüs* tanısında kullanılması da gecikmemiştir (541). Birinci nesil çalışmalarda kullanılan primerler ilk tanımlanan *Norovirüs* genomu temel alınarak hazırlandığından *Norovirus*'n genetik çeşitliliğine yeterince yanıt verememiş ayrıca klinik örneklere uygulandığında istenen performansı gösterememiştir (536). İkinci nesil çalışmalarda *Norovirüs*'e ait artan sekans bilgilerinden yararlanılmış olsa da *Norovirüs* eşitliliğini kapsayacak primer seçimindeki güçlük beş farklı ikinci nesil konvansiyonel PCR'ın karşılaştırıldığı çalışmada da ortaya konulmuştur (542). Karşılaşılan bu problem çok sayıda ideal primer seçimine yönelik çalışmayı da beraberinde getirmiştir (543). 2002 yılında ORF-1-ORF-2 birleşim bölümünün *Norovirüs* genomunda iyi korunmuş bölge olduğunun gösterilmesinin ardından tanı için de iyi bir hedef bölge olabileceği gösterilmiş böylece primer seçiminde önemli bir yol kat edilmiştir (544). Konvansiyonel PCR yöntemlerinde yaşanan bir diğer sorun da posthibridizasyon aşamasında yaşanan problemlerdir; bu problemin aşılması için agaroz jele ihtiyaç duyulmayan gerçek zamanlı PCR yöntemine yönelim başlamış ve gerçek zamanlı RT-PCR'ın uygun bir rutin tanı yöntemi olduğu bildirilmiştir (545). Tüm bu gelişmelerin doğal sonucu olarak farklı menşeili RT-PCR temelli ticari kitler de *Norovirüs* tanısında yerini almıştır (536). Literatürde bu ticari kitlerle yapılmış karşılaştırmalı çok sayıda çalışma mevcut olup, genellikle %90'ın üzerinde özgüllük ve duyarlılık bildirilmiştir (546).

1.4.2.7. Tedavi

Norovirüs infeksiyonu için spesifik antivirüs tedavisi veya protektif aşı yoktur. Tedavisinde ana kural, izotonik sıvı replasmanı ile dehidratasyonun önüne geçilmesidir. Ek olarak, kas ve baş ağrısı, kusma vb. klinik belirtilere dönük olarak analjezikler ve antiemetiklerle semptomatik tedavi yapılabilir. Hastalık semptomları sıklıkla 24–72 saat devam edip tam bir iyileşmeyle sonuçlanmaktadır (547).

Amerika ve Avrupa’da salgın raporları, ulusal sörveyans sistemi ve epidemiyolojik bültenler sağık hizmetini, koruma ve kontrol sistemlerini salgınlara karşı aktive etmektedir (548). Avrupa ölkelerinin büyük bölümünde sağıkta ve salgın konularında, değerlendirme ve bilgilendirme gerçekleştiren veri sistemleri yapılmıştır (549). *Norovirüs* salgınlarıyla savaşımda virüsün bulaşma araçları baz alınmaktadır. Gıdalardan kaynaklanan bulaş her çeşit besinin kontaminasyonu sonucu olabilmekle beraber, midye, istiridye, taze sebze ve meyve gibi besinlerle olan bulaş oranları daha fazladır (516).

Virüsün evre şartlarına bir hayli dayanıklı olmasından dolayı, besinler yeterli ısıya maruz tutulmalı ve besinlerin üretilmesinde kullanılacak olan su kaynaklarının kanalizasyon ile temas etmesine engel olunmalıdır. Virüsün hücre költürlerinde üretiminin zor olmasından su kaynaklarında direkt virüs teşhisi olanaksız olmakta, bunun için daha sık olarak gösterge olarak kullanılan bakteri olan koliformlardan faydalanılmaktadır. şayet su kaynaklarında kontaminasyon tespit edilirse, *Norovirüs* eliminasyonu için kesinlikle yüksek düzeyde (≥ 10 mg/l) klor uygulanmalıdır (550). Gıda sektöründe çalışmakta olan personel, tuvalet sonrasında ve işe başlanılmadan önce kesinlikle su ve sabun ile ellerini yıkamalı, hasta personel tamamıyla iyileşmeden iş başı yapmamalı ve virüsle ilgili bilgilendirilmelidir. İşlenmiş gıda satılan lokanta gibi mekanların mutfak bölümlerinde sıkı hijyen koşulları olmalı ve bilhassa bu alanlarda görev yapan personeller eldiven, bone, maske kullanmalıdırlar. Sebze-meyve gibi çiğ yenilen besinlerin iyi biçimde temizlendikten sonra tüketilmesi gerekmektedir. Ek olarak, soğutulan gıdalar kuralına uygun işlenmeli ve bulaşma kaynağı olan gıdalar saptandığında, hızlı şekilde tüketilmesi durdurulmalıdır. (551).

İnsandan insana bulaşmasında, öncelikli olarak fekal/oral bulaş önlenmelidir. Bu nedenle el hijyeni uygulanmalı, hastalar izole edilip sağlıklılardan ayrılmalı ve gerekli mekanlarda geniş yüzey dezenfeksiyonu sağlanmalıdır. Kontaminasyona uğramış alanlar hipoklorit içerikli dezenfektanlar ile temizlenmelidir. Bunları uygularken kesinlikle eldiven ve yüz maskesi kullanılmalıdır. Kontamine olmuş nevresimler yüksek ısılarda (en az 70° C) ve çamaşır suyu içerikli deterjanlar ile yıkanıp, masa, sandalye, musluklar, kapı kolları, tuvaletler ve banyo tutacağı vb. kontaminasyon olasılığı olan yüzeylerin temizliğine dikkat edilmelidir. Salgın olan hastaneler, yurtlar, bakımevleri, kamp alanları, gemiler vb. kapalı mekanlarda dezenfeksiyon ve karantina uygulamaları uygulanmalı, gerekirse eliminasyon sağlanana dek giriş-çıkışlara yasak getirilmelidir. Bilhassa hastalar, şikayetleri geçtikten 48–72 saat sonraya kadar okul ve işyerleri gibi toplu mekanlara gitmeyip, evlerinde istirahat etmelidirler. Salgın olan mekanlarda tuvalet temizliği sağlanıp, hastaların kusma ve dışkı gibi çıkartılarının değdiği kontamine yerlerin temizliği sağlanmalıdır. Salgın boyunca şebeke suları yeterli şekilde kaynatılıp kullanılmalıdır. Bununla birlikte, su kaynaklarına dönük klor ölçümü ve mikrobiyolojik analizlerin aksatılmadan yapılması gerekmektedir (550).

1.4.3. Adenovirüs

1.4.3.1. Tarihçe

Adenovirüs ilk kez 1953 yılında Rowe ve arkadaşları (552) tarafından adenoid cerrahisi yapılan örneklerin spontan dejenerasyona giden doku kültüründe üretilmesiyle elde edilmiştir. Sonrasında Hilleman ve Werner benzer virüs partikülünü askeri personellerde görülen akut respiratuvar hastalıklı (ARD) hastalarda saptamışlardır (553). Sonraki dönemlerde ise İkinci Dünya Savaşı askeri personeline gözlenen ARD, eksüdatif tonsillit, pnomoni gibi klinik durumlarda *Adenovirüs*'e karşı yüksek serum antikor titreleri saptanmıştır. 1955 yılında ise epidemik keratokonjunktivite neden olan *Adenovirüs* serotip 8 izole edilmiştir (554).

Adenovirüs'ler küçük çocuklarda ateşli hastalıkların önemli bir nedeni olan bir virüs ailesidir. En sık farenjit veya soğuk algınlığı gibi üst solunum yolu

sendromlarıyla ilişkilidir, ancak pnömoniye de neden olabilir. Daha az yaygın olarak, *Adenovirüs* 'ler gastrointestinal, oftalmolojik, genitoüriner ve nörolojik hastalıklara neden olur. Çoğu adenoviral hastalık kendi kendini sınırlar, ancak immün yetmezlikli konakçılarda ve bazen sağlıklı çocuklarda ve yetişkinlerde ölümcül enfeksiyonlar ortaya çıkabilir.

Enterik *Adenovirüs* 'ler 1975'te bulunmuştur. Enterik *Adenovirüs* 'ler yeni doğan ve küçük çocuklarda akut gastroenteritin *Rotavirüs* 'ten sonra önemli bir sebebidir (555).

1.4.3.2. Morfoloji ve Sınıflandırma

1.4.3.2.1. Virüsün Özellikleri

Adenovirüs 'ler, *Adenoviridae* ailesi içerisinde yer alan *Mastadenovirüs* cinsine ait olarak tanımlanmıştır (556). İnsan *Adenovirüs* 'ü, *Mastadenovirus* cinsine ait çift-sarmal zincirli, kılıflı DNA virüsüdür (557). 70'ten fazla serotipi içeren 7 türden (HAdV-A ila HAdV-G) oluşur (558) A, B, C, D, E ve F türleri tüm dünyada insanlarda enfeksiyon salgınlarına neden olur. Farklı genom tipleri enzim analizi ile aynı serotip içinde ayırt edilebilir. Tanımlanan serotiplerin yaklaşık üçte biri insan hastalığı ile ilişkilidir (559). Farklı serotipler, enfeksiyonun klinik bulguları ile ilişkili olan farklı doku tropizmleri gösterir (560).

İnsan *Adenovirüs* 'leri (HAdV), akut solunum yolu hastalığı, akut gastroenterit, konjonktivit, hemorajik sistit, hepatit, hemorajik kolit, pankreatit, nefrit veya meningoensefalit gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili önemli bir nedendir (558). 40 ve 41 serotiplerini içeren HAdV F, gastroenterit ile bağdaşır ve bu nedenle enterik *Adenovirüs* olarak adlandırılır (561, 562). Enterik *Adenovirüs* enfeksiyonun %1-%20'sinde ishal oluşur (563). HAdV-A, HAdV-B, HAdV-C gibi serotipler diyare hastalarında sporadik olarak tanımlanmıştır. HAdV-D ve HAdV-G serotipinin ishale neden olduğuna dair yeterli bilgi mevcut değildir (563-566).

1.4.3.2.2. Adenovirüs 'ün Replikasyonu

Adenovirüs 'ün enfeksiyon döngüsü erken ve geç faz olarak adlandırılmış iki kısımdan oluşmaktadır (567). Erken faz, virüsün hücre içerisine girmesi ve erken

genlerin transkripsiyon ve translasyona uğramasını kapsarken, geç faz, geç genlerin meydana gelmesi ve *Adenovirüs* partikülünün paketlenmesini kapsamaktadır (567). Geç faz 4-6 saat kadar sürede tamamlanırken, erken faz 6-8 saat kadar bir sürede tamamlanmaktadır (567).

Virüsün hücre ile ilk etkileşiminin, fiber topuzunun CAR'a (*Coxsackie/Adenovirus* receptor) bağlanmasıdır (567, 568). Virüs hücre reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Ayrıca virüs penton tabanı, divalent katyon varlığında integrinlere doğrudan bağlanmaktadır. Reseptör ile etkileşimden sonra virüs girişi klatrin aracılı endositoz ile devam etmektedir. F subgrubuna ait serotip 41 iki farklı fiber uzunluğuna sahiptir ve bunlardan yalnızca biri CAR'a bağlanmaktadır. Serotip 41 gastrointestinal sistem hücrelerini enfekte ettiğinden, diğer fiberin enterositler üzerindeki başka bir reseptöre bağlandığı düşünülmektedir. Virüs kapsit yapısı virüs kodlu proteazlar aracılığıyla bozulur ve kısmen bozulan virüs, nükleer membran ve oradan da nükleusa geçmektedir (567). Viral DNA nükleusa geçtikten sonra erken (E) ve geç (L) mRNA'lar oluşturulur. Replikasyon öncesi genom üzerinde 5 farklı bölgeden erken mRNA sentezlenir. E1 bölgesi *Adenovirüs* replikasyonunun düzenlenmesi ve başlaması açısından oldukça önemlidir. E1A RNA sentezini düzenler ve aktive etmektedir. E1B virüs ile enfekte olan hücrelerin apoptozise gitmesini engellemektedir. E2 DNA polimeraz enzimini kodlamakta, E3 ve E4 ise viral replikasyonun farklı dönemlerinde rol almaktadır (569). Genomun replikasyonu DNA polimeraz aracılığıyla gerçekleşmektedir. Polimeraz terminal proteini primer gibi kullanmaktadır. Replikasyondan sonra geç genler transkripsiyona uğramaktadır (570).

Viral mRNA'lar tarafından sitoplazmada yapısal proteinler sentezlenmektedir. Sentezlenen proteinler nükleusa taşınmakta ve tam virüs partikülünü oluşturmaktadır (570).

Enfekte hücrede sentezlenen yeni virüs partikülleri, otoliz ile serbest hale geçmektedir (569). Ancak *Adenovirüs* replikasyonu rölatif olarak verimsizdir ve oluşturulan virüslerden yalnızca %10-15'i tam virüs partikülü halinde olgunlaşmaktadır (569). Replikasyon enfeksiyondan 5 saat sonra başlamakta ve 48 saat içerisinde hücre başına virion üretilmektedir (571).

1.4.3.2.3. Serotiplerin Önemi

Tüm dünyada, 1 ile 5, 7, 21 ve 41 serotipleri en sık insan hastalıkları ile ilişkilidir. Farklı serotipler farklı doku trofizmleri gösterir ve enfeksiyonun klinik bulguları ile ilişkilidir. Çocuklar arasında en yaygın *Adenovirüs* serotipleri tip 1 ile 7 ve 11'dir (560-562) Yetişkinlerde (özellikle askerler) B1 alt türlerinin (*AdV*-3, 7, 11, 16 ve 21), C türünün (*AdV*-1, 2, 5 ve 6) ve E türünün (*AdV*-4) (572) serotipleri hastalıkla ilişkilidir. *AdV*-11 ayrıca çocuklarda veya nakil alıcılarında idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir (573). *AdV*-35, kronik psikiyatrik hastalıkta pnömoni salgını ile de ilişkilendirilmiştir (574). D Tipi (*AdV*-8, 19 ve 37) genellikle konjunktivite neden olur, daha yaygın serotipler (örneğin, *AdV*-3, 4, 7 ve 11) konjunktivite neden olabilir (575). Gastroenterit enterik *Adenovirüs* suşları 40 ve 41 (tür F) ile ilişkilidir; *AdV*-12, 18 ve 31 (tür A); ve *AdV*-52 (tür G). *AdV*-5, 31, 34, 35 ve 39 serotipleri, bağışıklığı baskılanmış hastalarda salgınlara neden olur. Bazı hastalarda, çoklu serotipler veya türler eş zamanlı olarak izole edilmiştir (560-562).

1.4.3.2.4. Serotip Prevalansı

Her tür içindeki serotipler DNA düzeyinde yakından ilişkilidir ve sıklıkla benzer biyolojik özellikleri paylaşır. Örnek olarak, B tipi serotipler 11, 34 ve 35 hemorajik sistite neden olurken, D tipi serotipler 8, 19 ve 37 keratokonjunktivit ile ilişkilidir.

Adenovirüs enfeksiyonu olan hastaların büyük çoğunluğu test edilmediğinden, farklı serotiplerin prevalansı net belirlenemez. 2003'ten 2016'ya kadar en sık saptanan serotipler 3, 2, 1, 4, 7 ve 14'tür; Örneklerin %82'si solunum kaynaklıdır ve bu nedenle bildirilen en yaygın serotipler solunum yolu hastalığı ile ilişkili olanlardır. Bu serotipler, serotipin tanımlandığı 1497 raporun (%86) 1283'ünü oluşturmaktadır. *Adenovirüs* serotip 14, ilk kez 1955'te Hollanda'daki askerlerde tespit edilen ve daha sonra Avrupa genelinde sporadik salgınlara neden olan bir B türü serotiptir. Bu serotipin bir çeşidi 2005 yılında ABD'de ortaya çıkmış ve pnömoni salgınına neden olmuştur (576).

1.4.3.3. Patogenez

Adenovirüs 'ler gastrointestinal sistem, solunum yolu, göz ve idrar yollarının epitel hücrelerinde enfekte olur ve çoğalır. Genel itibariyle bölgesel lenf düğümlerinin ötesine yayılmazlar. İnsan *Adenovirüs* 'lerinin çoğu sindirimden sonra bağırsak epitelyumunda replike olmaktadır (577). *Adenovirüs* ile enfekte olmuş hücrelerin, bazofilik inklüzyonları olan genişlemiş nukleuslarının olduğu ve bunların ince kenarlı bir sitoplazma ile çevrelendiği görülmüş ve bu hücreler 'leke' hücreler olarak isimlendirilmiştir (578).

İmmün sistemi sağlıklı olan bireylerin *Adenovirüs* enfeksiyonlarını genellikle hafif olarak geçirdikleri gözlemlenmiştir. Primer *Adenovirüs* enfeksiyonları nötralizan antikor üretimi ile sonuçlanmakta ve bu antikorlar belirli serotipe karşı ömür boyu bağışıklık kazandırmaktadır (579). Akut enfeksiyondan sonra T hücre aracılı immünite iyileşmede önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle immün sisitemi baskılanmış ve etkin hücresel bağışıklığı olmayan hastalar *Adenovirüs* enfeksiyonu için daha yüksek riske sahiptirler. Humoral yanıtın ise *Adenovirüs* enfeksiyonunu kontrol etmede rol aldığı anlaşılmıştır. Ölümcül *Adenovirüs* hastalığı olan çocukların serumlarında yapılan araştırmada interlökin-6, interlökin-8 ve tümör nekrozis faktör alfa bulunduğu ve bu sitokinlerin orta dereceli hastalıklarda bulunmadığı ortaya çıkarılmıştır (578). *Adenovirüs* 'ler genomlarının önemli bir bölümünü, yalnızca görevi konak immün sisteminden gelen yanıtları hafifletmek olan gen ürünlerine ayırmaktadır. Bu mekanizma sayesinde virüs kendini muhafaza etmektedir. Özellikle tonsiller ve adenoidlerdeki T lenfositlerde *Adenovirüs* DNA 'sının barındığı gösterilmiştir (578).

1.4.3.4. Epidemiyoloji

Adenovirüs 'lerin dünyanın her bölgesinde görülür ve enfeksiyonlar yıl boyunca mevsimsel farklılık olmadan ortaya çıkabilir. *Adenovirüs* 'ler bebeklerde ve küçük çocuklardaki ateşli hastalıkların %5 ile %10'una neden olmaktadır. *Adenovirüs* enfeksiyonları bakım merkezlerinde ve küçük çocuklu ailelerde yaygındır. Hastaneden bulaştığı da gösterilmiştir (580).

Adenovirüs enfeksiyonlarının salgınları genel olarak, kapalı veya kalabalık ortamlarda ortaya çıkar. Yaz kamplarında ve halka açık yüzme havuzlarında faringokonjunktival ateş, tıbbi bakım merkezlerinde keratokonjunktivit ve ciddi akut solunum hastalığı olarak ortaya çıkabilir (581-583).

Adenovirüs 'ün bulaşması, aerosol damlacıkları, fekal-oral yol ve kontamine eşyaların teması yoluyla meydana gelebilir. *Adenovirüs* 'ler çevresel yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilir; lipid dezenfektanlara karşı dayanıklıdırlar çünkü zarflanmamışlardır. Ancak ısı, formaldehit veya ağartıcı (sodyum hipoklorit) ile inaktive edilirler. Yenidoğanlar doğumda servikal sekresyonlara maruz kalmaktan adenoviral enfeksiyon alabilirler. *Adenovirüs* 'lerin donör böbrek ve karaciğer nakillerinden bulaşabileceğine dair serolojik kanıtlar, bu organların nadiren *Adenovirüs* 'leri gizli bir biçimde barındırdığını düşündürmektedir (584-586).

1.4.3.5. Klinik

Adenoviral hastalığın klinik belirtileri konağın yaşına ve immün yetmezliğine göre değişir. Şiddetli hastalık serotip 7, serotip 5, serotip 21 ve serotip 14 ile ilişkilendirilmiştir (587-589).

Solunum yolu; *Adenovirüs* 'ler, ateşli solunum hastalığı olan küçük çocuklardan izole edilen en yaygın virüsler arasındadır. Her zamanki hastalık süresi beş ile yedi gündür, ancak semptomlar iki haftaya kadar devam edebilir. Bakteriyel süper enfeksiyonlar oluşabilir (576).

Farenjit ve soğuk algınlığı; Farenjit ve soğuk algınlığı *Adenovirüs* enfeksiyonunun sık görülen kliniğidir. Farenjit sıklıkla konjunktivit, laringotrakit, bronşit veya zatürre ile ilişkilidir. Ateş ve halsizlik, baş ağrısı, kas ağrısı ve karın ağrısı gibi diğer sistemik belirtiler yaygındır. Birçok durumda, eksüdatif tonsillit ve servikal adenopati, A grubu streptokok enfeksiyonundan klinik olarak ayırt edilemeyen bir sendrom olabilir. *Adenovirüs* 'ler küçük çocuklarda bademcik iltihabının en yaygın nedenleri arasındadır (590).

Otitis media ve bronşiyolit; Otitis media, özellikle 1 yaşın altındaki çocuklarda sık görülen bir diğer klinik bulgudur. *Adenovirüs* 'ler ayrıca boğmaca benzeri bir sendrom, bronşiyolit veya bir ekzanteme neden olabilir (590).

Pnömoni; B tipi 3, 7, 14 ve 21 serotipleri ciddi ve komplike pnömoni ile ilişkilendirilmiştir (591). Toplum kökenli pnömonili çocukların ve yetişkinlerin üst solunum yollarındaki virüslerin prevalansını, asemptomatik kontrollerdeki prevalans ile karşılaştıran prospektif bir çalışmada, *Adenovirüs* 'ün saptanması sadece 2 yaşın altındaki çocuklarda pnömoni ile ilişkili bulunmuştur. Bu, *Adenovirüs* 'ün, tespit edildiği tüm hastalarda (özellikle ≥ 2 yaşlarında) pnömoninin patojeni olmayabileceğini düşündürmektedir (592).

Pnömoni bebeklerde büyük çocuklardan daha şiddetlidir ve uyuşukluk, ishal ve kusma ile ilişkili olabilir. Meningoensefalit, hepatit, miyokardit, nefrit, nötropeni ve yaygın damar içi pıhtılaşma gibi akciğer dışı komplikasyonlar nadiren ortaya çıkar (593).

Akut solunum hastalığı; Genç erişkinlerde, özellikle askeri eğitim kamplarında bulunan kalabalık ortamlarda akut solunum yolu hastalığı sendromu ortaya çıkabilir (583). Semptomlar ateş, farenjit, öksürük, ses kısıklığı ve konjunktiviti içerir. Nadiren ölümlere neden olan pnömoni de ortaya çıkabilir (594). Akut solunum yolu hastalığı salgınları *Adenovirüs* türleri E serotip 4 ve B tipi serotipler 3, 7, 11, 14 ve 21 ile ilişkilendirilmiştir (581).

Faringokonjunktival ateş, sıklıkla ateşli farenjit ve servikal adenitin eşlik ettiği foliküler konjunktivitten oluşan klasik bir adenoviral sendromdur. Faringokonjunktival ateş salgınları, özellikle yaz kamplarında, yüzme havuzları veya göllerle ilişkili olarak tanımlanmıştır. *Adenovirüs* tür B serotipleri 3 ve 7 en yaygın izolatlardır, ancak B, C, D ve E türleri de etken serotipler olarak bildirilmiştir (581).

Epidemik keratokonjunktivit, öncelikle D serotipleri 8, 19 ve 37 ile ilişkili daha ciddi bir hastalıktır. Preauriküler adenopatiye sahip bilateral konjunktivit, ardından ağrılı korneal opasitelerin gelişmesi ile karakterizedir. Hastalık kendi kendine sınırlı olmasına ve neredeyse hiç kalıcı kornea hasarına neden olmamasına rağmen, dört haftaya kadar uzun bir süre devam edebilir. Şiddetli ağrıya ve bulanık görmeye neden olur (595).

Diyare; Küçük çocuklarda, akut diyare hastalıklarının %5 ile %10'u *Adenovirüs* serotipleri 40 ve 41 alt grubundan kaynaklanır. Bu enterik *Adenovirüs*'ler ilk olarak dışkı örneklerinde elektron mikroskopisi ile tanımlanmıştır. 400'den fazla akut infantil gastroenterit vakasının bir çalışmasında enterik *Adenovirüs*'ler, vakaların %7,2'sinde tek ishal nedeni olarak belirlenmiştir (596).

40 ve 41 serotiplerinden farklı olarak, epidemiyolojik çalışmalar diğer birçok serotip ve gastroenterit arasında açık bir korelasyon göstermemiştir. Bununla birlikte, A serotipi 31 türü bazı raporlarda infantil diyare ile ilişkilendirilmiştir (597). Ek olarak, daha düşük serotip adenovirüsler apandisit taklit edebilen ve nadiren intusepsiyona neden olabilen mezenterik adenit ile ilişkilendirilmiştir. *Adenovirüs*'ler, birincil enfeksiyondan sonra aylarca dışkıda saptanabilir. Bu nedenle, dışkıda *Adenovirüs*'ün saptanması genellikle klinik olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte, bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılarda, semptomatik gastroenterit bir dizi *Adenovirüs* serotipi ile ilişkilendirilmiştir (598).

Hepatit, bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılarda, özellikle C tipi serotip 5 ile *Adenovirüs* enfeksiyonlarının iyi tanımlanmış bir komplikasyonudur (599). *Adenovirüs*'e bağlı hepatit, pediatrik karaciğer nakli alıcılarında özel bir sorundur ve bu hastalarda ölümcül olabilir. *Adenovirüs*'e bağlı hepatit vakasının gözden geçirilmesinde karaciğer transplant alıcılarında %48, hematopoietik hücre transplant alıcılarında %21 görülmüştür (600).

Genitoüriner sistem; *Adenovirüs* türleri B serotipleri 11 ve 21 çocuklarda akut hemorajik sistit ile ilişkilendirilmiştir (601).

Yetişkinlerde *Adenovirüs* türleri D serotipleri 19 ve 37 nadiren üretrit ile ilişkilendirilmiştir (602). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda *Adenovirüs* türü B serotipleri 11, 34 ve 35 hemorajik sistit ve tubulointerstisyel nefrite neden olabilir (603).

Sinir sistemi; Menenjit ve ensefalit nadiren *Adenovirüs* enfeksiyonu ile ilişkili olarak bildirilmiştir (604).

Dissemine *Adenovirüs* enfeksiyonu hem immün sistemi baskılanmış hem de immün yetmezliği olan çocuklarda ve hematopoetik hücre veya organ transplantasyonu yapılmış erişkinlerde bildirilmiştir. Yaygın *Adenovirüs* hemen hemen her organı etkileyebilir ve zatürre, kolit, hepatit, nefrit ve ensefalite neden olabilir (605).

Miyokardit; Çocuklardaki akut miyokarditte *Adenovirüs*, PCR ile kanıtlanmış viral miyokardit vakalarının %60'ında meydana gelen en yaygın viral miyokardit nedenidir (606).

Adenovirüs bazen rabdomiyoliz eşliğinde viral miyozit ile ilişkilendirilmiştir (607).

Dışkı veya idrar örneklerinde bulunma sıklığına rağmen, *Adenovirüs*'ler HIV ile enfekte hastalarda nadir görülen bir morbidite veya mortalite nedenidir. Kronik ishaller bazı hastalarda virüsler, kolon biyopsilerinde histopatoloji veya elektron mikroskopisi ile belgelenmiştir. Bununla birlikte, ishal diğer patojenlerin tedavisi ile düzelebilir (608).

1.4.3.6. Tanı

Bağışıklık sistemi normal olan hastalarda birçok *Adenovirüs* enfeksiyonu hafif ya da kendini sınırlayıcı nitelikte olduğu için teşhis konmasına gerek yoktur. Fakat teşhisin belirlenmesi salgınlarda veya bağışıklık sistemi çökmüş ya da ciddi hastalarda faydalı olabilir. *Adenovirüs* enfeksiyonu teşhisi genel olarak virüs kültürde üreterek, antijen spesifik çalışmalarla veya serolojik olarak koyulabilir. Yakın zamanda PCR yöntemi sensitivitesi ve spesifitesi yüksek olduğu için daha çok tercih edilmektedir. Serotip 40 ve 41 hariç *Adenovirüs*'lerin çoğu rutin olarak doku kültüründe üretilmektedir. İnsan epitelyal hücrelerde 2-7 gün içinde tipik olarak sitopatik etkiyle üreyebilmektedir. Bazı grup D serotiplerinin izole edilmesi 4 haftayı bulabilir. Virüsler nazofarinks sürüntüsü ve salgılardan, boğaz sürüntülerinden, konjunktiva sürüntüsü ve kazıntılarında, dışkı ve rektal sürüntülerden, idrardan, BOS'tan ve çeşitli dokulardan alınabilir. Farenjitli hastalarda 1-3 gün içinde, faringokonjunktival ateşli hastalarda 3-5 gün içinde keratokonjunktivitli hastalarda da 2 haftayı bulan sürelerde elde edilebilir (609).

Eğer kültür elde edilemiyorsa direkt antijen saptaması hızlı tanımlanmasını sağlayabilmektedir. İmmünfloresan metodu (IFA) solunum yolu ve dokular açısından uygun olup, enzim ilişkili immünosorbent çözümleme (ELİSA) ise dışkıda *Adenovirüs serotip 40-41* saptanması için etkin metotlardır. İmmünfloresan (IFA) metoduyla virüs saptanması kültürle karşılaştırıldığında solunum yollarından izole olan numunelerde %40 ile %60 daha az hassastır (610). *Adenovirüs* enfeksiyonu akut veya iyileşmekte olan hastalarda *Adenovirüs* spesifik antikor tayini ile saptanabilmektedir. Serotip tayini rutinde yapılmamakta olup viroloji labratuvarlarında hemaglutinin numunelerinde ve tipe özgü besiyerlerinde serum nötralizasyon yöntemiyle çalışılabilmektedir (611).

Tanımlama için fiksasyona uğramış dokular da dahil kan ve serumdan virüsün saptanması, serotip belirlenmesi ve pek çok klinik numuneden PCR ile *Adenovirus* DNA'sı saptanması bir hayli sık kullanılmaktadır. Multipleks PCR metoduyla tüm 51 serotipi daha kapsamlı ayrıştırılıp identifikasyonu yapılabilmektedir. Real time PCR metodu bilhassa çocuklarda kök hücre nakli olan ve immün sistemi baskılanan hasta bireylerde periferik kandan viral yükün saptanması imkanı vermektedir. Semptom göstermeyen, immünsüprese erişkin hastalarda PCR'ın spesifitesi idrarda, boğaz sürüntüsünde ve periferik kan numunelerinde %96-100'e varan oranlarda yüksektir (611).

Saptandığı zaman doku kültüre veya patolojik incelemeye gönderilmelidir. Akciğerlerdeki histopatolojik bulgular diffüz interstisyel pnömonitis, nekrotize bronşit, bronşiolit, mononükleer hücre infiltrasyonu ve hyalen membran ile karakterizedir. Enfeksiyon sonrası erken dönemde, enfekte hücrelerde küçük eozinofilik depolanma görülebilir. Geç enfeksiyon döneminde, bazofilik nükleus içi birikimler, etrafı ince berrak halo kaplı nükleus zarının belirginliğini bozacak şekilde genişleme gözlenir. Bu *Adenovirüs* enfeksiyonu için karakteristik “bulanık hücre” görünümüdür. *Adenovirüs* enfeksiyonunda CMV enfeksiyonunda olduğu gibi sitoplazma içi birikim veya multinükleer dev hücreler gözlenmez (611).

1.4.3.7. Tedavi

Adenovirüs enfeksiyonu için kesin çözüm olarak antivirallerle tedavi metodu yoktur. Kök hücre ve solid organ nakli olan hasta bireylerde *Adenovirüs* enfeksiyonunu tedavi edebilmek için CD-4 T hücre seviyesini artırarak bağışıklığı güçlendirme hedeflenmelidir (612). *Adenovirüs* enfeksiyonunun antivirallerle tedavisi konusunda kanıtlanan prospektif ve kontrollü araştırma yoktur. Bilhassa immünsüprese bireylerde tedavi metoduyla alakalı retrospektif araştırmalarda klinik deneyim epeyce kısıtlıdır. Sidofovirin, in vitro çalışmalarda ve hayvan deneylerinde *Adenovirüs* enfeksiyonunun gözdeki bulgularını geriletmediği gösterilmiştir. Fakat sidofovirin eksüdatif keratokonjunktiviteki kullanımı göze olan toksik etkisinden dolayı etkili bulunmamıştır (613). Ribavirin kullanımı *Adenovirüs* ile enfekte kök hücre transplantasyonu olan birçok vakada bildirilmiştir, fakat tedavi etkinliğinin özellikle grup C serotiplerinde kısıtlı olduğu gösterilmiştir. Vidarabinin ve gansiklovirin *Adenovirüs*'e karşı invitro olarak etkili olduğu gösterilmiştir, fakat bu ajanlarla ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Özetle *Adenovirüs* enfeksiyonları için bilinen etkin bir antiviral tedavi yoktur. İmmün yetmezlikli hastalar ve immünsüpresif tedavi alan hastalarda *Adenovirüs* etken olarak saptandıktan sonra destek tedavisine ek olarak antiviral tedaviler verilebilmektedir (614).

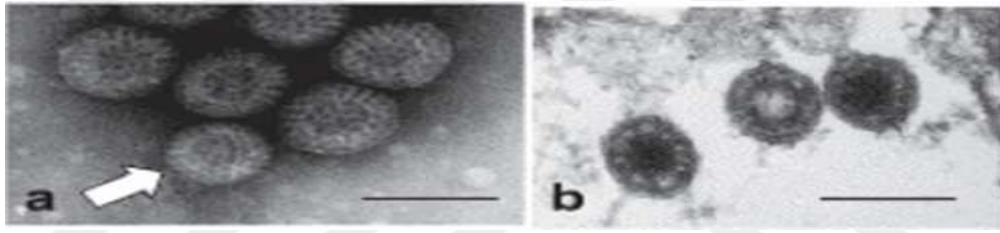
Pediyatrik kök hücre transplantasyonu olmuş 58 hastanın prospektif olarak enfeksiyon bulgularının haftalık olarak izlendiği bir çalışmada sidofovir ile tedavi sonrası birçok vakada semptom ve vireminin kaybolduğu gösterilmiştir (615). Bazı gruplarda T hücre ile yapılan immünoterapi yöntemi denenmiştir, fakat kesin sonuçlar bilinmemekte ve tedavinin etkinliğinin saptanması gerekmektedir (614).

1.4.4. Rotavirüs

1.4.4.1. Tarihçe

Bishop ve arkadaşları tarafından (616) 1973 yılının mayıs ayında yapılan çalışmada akut gastroenteritli çocukların duodenum mukozasından ince kesitler alınarak elektron mikroskopunda incelenmiştir. Bunun sonucunda villusun üst

yüzeyini astarlayan epitelyal hücrelerde bol miktarda viral parçacıklar saptanmıştır. Saptanan bu virüslerin *Reovirüs/Orbivirüs* ile benzerliklerinin tanımlanmasının yanısıra yenidoğan fare ve buzağılarda diyareye neden olan virüslerle de yakın bir benzerliği olduğu görülmüştür. Virüs diyare şeklindeki dışkılarda elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda 70 nm'lik partikül olarak tanımlanmıştır (574, 616). *Rotavirüs*'ün elektron mikroskobisi ile görünümü şekil 14'de verilmiştir (574). Çocuklardan tespit edilen 70 nm çapındaki virüs başlangıçta *Reovirüs* benzeri, *Orbivirüs* benzeri, *Duovirüs*, infantil gastroenterit virüsü ve yeni virüs gibi birçok isimle anılmış ancak elektron mikroskobunda tekerlek benzeri bir görüntü oluşturduğundan *Rotavirüs* (Rota Latince'de tekerlek anlamına gelmektedir.) adını almıştır (616).



Şekil 14. Rotavirüs elektron mikroskobisi altındaki görünümü (574)

1.4.4.2. Morfoloji

1.4.4.2.1. Virüs Yapısı

Rotavirüs, *Reoviridae* ailesinin üyelerindendir. *Reoviridae* ailesi *Orthoreovirüs*, *Orbivirüs*, *Coltivorüs*, *Aquareovirüs*, *Cypovirüs*, *Fijivirüs*, *Phytoreovirüs*, *Oryzavirüs*, *Seadornavirüs*, *Idnoreovirüs* ve *Mycoreovirüs* cinslerini de kapsamaktadır. *Rotaviridae* ailesinin mensupları ortak yapısal ve biyokimyasal nitelikleri paylaşmaktadırlar. *Rotavirüs* zarfsız, 70 nm eninde, kapsidi ikozahedral, segmentli çift sarmallı bir RNA virüsüdür. Elektron mikroskobisiyle incelendiği zaman tekerleğe benzeyen görüntüsünden dolayı Latince'de tekerlek manasına gelen “rota” adı verilmiştir. *Rotavirüs* 11 segmentten oluşan, çift zincirli RNA genomu ve 3 katmanlı partikülden oluşmaktadır. Bu katmanlar, dış-ış kapsit ve kordan meydana gelmektedir. İç kapsit VP6

proteininden meydana gelmekte, çekirdeği çevrelemektedir ve virüsün en önemli bağışıklık proteinidir (617).

Rotavirüs, kısa kollu ve pürüzsüz dış kenarlı bir tekerleğe benzemektedir. *Rotavirüs* mikroskopisinde üç katmanlı olarak izlenir. Bu üç katmanlı yapı, iç kapsid tabakasından (viral protein (VP) 2), orta kapsid tabakasından (VP6) ve dış kapsid tabakasından (VP7 ve sivri protein VP4) oluşur. VP4 proteolitik olarak VP8 ve VP5 'e ayrılır. Yapısal protein VP2, VP1 ve VP3 enzimleri ve viral genom viryon çekirdeğini oluşturur. Orta kapsid tabakası proteini (VP6), tür, grup ve alt grup spesifikliklerini belirler. Dış kapsid tabakası, enfekte olmuş konakçılarda bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkaran ve *Rotavirüste* özgü antikorların üretimine yol açan iki protein olan VP7 ve VP4'ten oluşur. *Rotavirüs* genomu 11 segmentli ve çift sarmallı RNA'dan (dsRNA) oluşmuştur (617).

Rotavirüs 'ler, 11 segmentli dsRNA'nın bir genomunu çevreleyen üç eş merkezli kapsidin karmaşık yapısına sahip, zarfsız, çift sarmallı RNA (dsRNA) virüsleridir. RNA segmentleri altı yapısal viral proteini (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 ve VP7) ve altı yapısal olmayan proteini (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 ve NSP6) kodlar. *Rotavirüs*'ün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerinin nitelikleri tablo 4'te açıklanmıştır. Olgun virüs partikülündeki proteinler, viral transkriptlerin üretimi için gerekli konakçı özgüllüğünü, hücre girişini ve enzimatik fonksiyonları belirler ve bağışıklık tepkileri üreten epitoplar içerir. Yapısal olmayan proteinler, doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin (NSP1 için özel bir rol) genom replikasyonuna ve antagonizmasına katılır ve viral enterotoksin NSP4'ü üretir (617).

On farklı *Rotavirüs* türü (A – J), VP6'nın (REFS 5-7) sekansı ve antijenik farklılıkları temelinde sınıflandırılmıştır. Çocuklarda enfeksiyonların en yaygın nedeni olan *Rotavirüs*'lerin antijenik farklılıklarıyla berbaer alt türleri tespit edilmektedir. *Rotavirüs*'lerin suşları için kullanılan çift adlandırma sisteminin temelini oluşturan RNA segmentleri 7 ve 4'te (sırasıyla VP7 ve VP4 kodlayan) dizi farklılıklarına dayanarak farklı genotiplere sınıflandırılır, böylece glikoprotein (G veya VP7) ve proteazla yarılmış protein (P veya VP4) alt tipleri farklılaştırılmıştır. Bugüne kadar, A *Rotavirüs*'ünün 32 G genotipleri ve 47 P genotipleri belirlenmiştir. Türlerdeki coğrafi farklılıklar *Rotavirüs* suşu dağılımı için de

farklılıklar göstermiştir, düşük gelirli ülkelerdeki çocuklarda rotavirüs hastalığına neden olan daha fazla suş, yüksek gelirli ülkelerdeki çocuklardan daha fazladır. İnsan türleri hayvan suşları ile yüksek derecede genetik homolojiye sahip bir *Rotavirüs* suşu tanımlanmıştır ve doğrudan hayvandan insana bulaşabilir (618, 619). Virüs evrimi, türlerin farklı türler tarafından koenfeksiyonundan sonra ortaya çıkabilen nokta mutasyonlarının ve genom yeniden birikmesi sonucu ortaya çıkar (620).

Tablo 4: Rotavirüs'ün strüktürel (VP) /nonstrüktürel (NSP) proteinlerinin nitelikleri (617).

RNA Segmenti	Kodlanan Proteinler	Virüsün Hücre içi Yeri	Proteinlerin Özellikleri
1	VP1	İç kor proteini	RNA bağımlı RNA polimeraz, ssRNA'ya bağlanma, VP3 ile kompleks oluşturma, VP2 ile etkileşim
2	VP2	İç kor proteini	Yapısal protein, kor proteini, dsRNA ve ssRNA'ya bağlanma, VP1 replikaz aktivitesi için gerekli
3	VP3	İç kor proteini	guanil transferaz, metil transferaz, VP1 ile kompleks oluşturma
4	VP4	Dış kapsid proteini	reseptör bağlama, virulans faktörü, nötralizasyon proteini, hemagglütinasyon füzogenik protein, VP5 ve VP8 oluşturma
5	NSP1	Yapısal olmayan protein	RNA'ya bağlanma, IRF 'ye antagonist
6	VP6	İç kapsid protein	grup ve subgrup antijeni, transkripsiyon için gerekli
7	NSP3	Yapısal olmayan protein	mRNA bağlayıcı, konak translasyonunu engelleme.
8	NSP2	Yapısal olmayan protein	RNA ve NSP5 bağlayıcı, viroplazma oluşturma
9	VP7	Dış kapsid proteini	nötralizasyon proteini
10	NSP4	Yapısal olmayan protein	transmembran proteini, enterotoksin, hücrede Ca^{+2} toplama
11	NSP5	Yapısal olmayan protein	fosforillenmiş, NSP2 bağlayıcı, VP2 ve NSP6 etkileşimi
	NSP6	Yapısal olmayan protein	NSP5 dimerizasyonu vefosforilasyonu

1.4.4.2.2. Virüsün Hücre İçine Girişi ve Replikasyonu

Rotavirüs, ince bağırsakta enteroendokrin hücrelerde olgun, bölünmeyen enterositlerde enfekte olur ve çoğalır (621). Olgun enterositlerin ve enteroendokrin hücrelerin enfeksiyona yatkınlığı farelerde, bir insan enteroendokrin hücre yüzeyinde ve insan bağırsak enteroid (HIE) kültürlerinde (BOX 1) gösterilmiştir (621, 622). Konakçı hücrelere *Rotavirüs* bağlanmasına, dış kapsid proteini VP4 aracılık eder (VP8 alanı yoluyla) ve sialoglikanlar (GM1 ve GD1a gibi gangliosidler) ve histo-kan grubu antijenleri (HBGA'lar) dahil olmak üzere konak hücre yüzeyi üzerindeki bağlanma noktalarıdır. *Rotavirüs*-HBGA etkileşimleri *Rotavirüs* P genotipine bağlıdır ve bu etkileşimlerin incelenmesi konakçı hedef kısıtlaması ve farklı *Rotavirüs* suşlarının türler arası iletimine yeni bakışlar sağlamıştır (623, 624). HBGA ekspresyonundaki genetik farklılıklar, popülasyonlar arasındaki *Rotavirüs* epidemiyolojisindeki farklılıkları açıklayabilir. Örneğin, yenidoğanların bazı *Rotavirüs* genotiplerine (P11 gibi) duyarlılığı, gelişimsel olarak düzenlenmiş öncü HBGA'nın bağlanmasına bağlı olabilir ve Afrika'daki çocuklarda *Rotavirüs* enfeksiyonlarının yüksek prevalansı, bu popülasyonda Lewis-negatif glikan fenotipinin yüksek prevalansı ile ilgilidir (625). HBGA'ların *Rotavirüs* aşı suşlarına yatkınlıktaki rolü ve aşı etkinliği üzerine ilişkili etkisi halk sağlığı araştırmalarının önemli, gelişmekte olan alanlarıdır. Hücresel alımı takiben, sitoplazmik viroplazmalarda *Rotavirüs* replikasyonu ve birleşmesi meydana gelir ve yeni üretilen *Rotavirüs*ler, hücre lizisi veya golgiden bağımsız klasik olmayan veziküler taşıma yoluyla hücrelerden salınır (626).

1.4.4.2.3. *Rotavirüs* Replikasyon Döngüsü

Rotavirüs'ler, virüs suşuna bağlı olarak VP4'ün viral protein 8 (VP8) alanı ile etkileşim yoluyla konak hücre yüzeyinde farklı glikan reseptörlerine bağlanır. Sialoglikanlar (örneğin, GM1 ve GD1a gibi gangliosidler) VP8 için anahtar hücresel glikan ortağı olarak kabul edilmiştir. Sialoglikanların VP8 için anahtar görevi görmesi hayvansal *Rotavirüs* suşları için geçerli olmasına rağmen, birçok insan *Rotavirüs* suşunun VP8'i, HBGA adı verilen genetik olarak belirlenmiş glikokonjugatları bağlar. *Rotavirüs* hücrelerine giriş için kullanılan diğer reseptörler arasında integrinler 210, ısı şok proteini 70 (REFS 211, 212) ve fonksiyonel

yapışma molekülü A, okludin ve sıkı birleşme proteini ZO-1 (REF 213) gibi fonksiyonel proteinler bulunur. İlk bağlanmadan sonra VP4'ün VP7 ve VP5 alanı, viral girişe aracılık etmek için lipid salgılarında konsantre edilen bu ko-reseptörlerin birkaçı ile etkileşime girebilir. *Rotavirüs* türüne bağlı olarak, virüs klatrin bağımlı veya klatrin bağımsız endositik ve caveolinden bağımsız yollarla hücrelere içselleştirilir (624, 627). Endozom içindeki düşük kalsiyum seviyeleri, transkripsiyonel olarak aktif çift katmanlı partikülü (DLP) sitoplazmaya bırakan dış kapsid tabakasının çıkarılmasını tetikler. Viral mRNA, genom replikasyonu sırasında translasyon için veya RNA sentezi için bir şablon olarak kullanılır; RNA daha sonra viroplazmalar içinde yeni DLP'lere paketlenir. Üç katmanlı partikül düzeneği, yeni oluşturulan DLP'lerin, hücre içi bir reseptör görevi gören yapısal olmayan protein 4'e (NSP4) bağlanmasını ve ardından DLP'lerin endoplazmik retikulum (ER) içine tomurcuklanmasını içerir. Ek olarak, NSP4, virüs replikasyonu için gerekli sitoplazmik kalsiyum seviyelerinde bir artışa aracılık eder. ER'de geçici zarflı partiküller gözlenebilir ve DLP'lere dış kapsid proteinleri VP4 ve VP7 eklenir. Daha sonra zarf kaybolur, virüs parçacıkları olgunlaşır ve döl virionları hücre lizisi yoluyla veya polarize epitel hücrelerinde golgiden bağımsız klasik olmayan veziküler taşıma mekanizması ile hücrelerden salınır (628, 629).

1.4.4.3. Patogenez

Rotavirüs 'ler, beş yaş altı çocuklarda ciddi dehidratasyonla seyreden, dünya genelinde tüm sosyoekonomik kitlelerde yaygın olarak görülen ciddi bir gastroenterit etkenidir. *Rotavirüs* ince bağırsak villusundaki olgun enterositleri enfekte eder ve bu hücrelerin fonksiyonunu bozar. Hücreye su girişi önlenir. Böylece su ve iyon kaybıyla seyreden ağır dehidratasyon tablosu sergileyen ciddi bir gastroenterite yol açar (630).

Rotavirüs enfeksiyonu neredeyse her zaman ince bağırsakta sınırlı kalsa da, tablo enterosit vakuolizasyonu gibi hafif bulgulardan villus küntleşmesi ve kriptlerde hiperplazi oluşması gibi ağır tablolara varan bir spektrum içerisinde kendini gösterebilir. Histolojik lezyonlar hastalığın belirtileriyle bir korelasyon içerisinde değildir. Önceleri *Rotavirüs*'e bağlı oluşan ishal tablosunun yalnızca enterosit hasarı sonucu oluşan malabsorbsiyona sekonder olduğu düşünülürdü

ancak günümüzde buna ek olarak birçok farklı mekanizma sorumlu tutulmakta ve bu mekanizmaların oluşmasında virüs ve konağa ait faktörlerin önemi vurgulanmaktadır. Kript hücrelerden oluşan kript epitelyum villus enterositlerinin progenitörüdür. Villus hücreleri absorpsiyonu dengelerken, kript hücrelerinin sekresyonu dengelemesiyle enterositler ve kript hücreler arasında oluşan bu koordinasyon sonucunda elektrolitlerin ve suyun epitelyum boyunca sabit iki yönlü akışı sağlanmış olur (631).

Villus enterositleri enfekte olursa aynı anda plazma membranında ve endoplazmik retikulum membranında kalsiyum geçirgenliği artar. Bu da intraselüler kalsiyum miktarının yükselmesine sekonder hücre ölümüyle sonuçlanan bir dizi reaksiyonu tetiklemiş olur. Mevcut intraselüler kalsiyum artışı F aktin, villin ve tubulin proteinlerini etkileyerek hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. *Rotavirüs* enfeksiyonu sonucunda sodyum, su ve glikozun ince bağırsaktan emilimi azalırken; bağırsak laktaz, alkalin fosfataz ve sükröz düzeylerinde azalma meydana gelince mevcut ishal tablosu giderek ağırlaşmış olur. *Rotavirüs* patogenezindeki ilginç faktörlerden biri de viral enterotoksin olarak görev yapan, *Rotavirüs*'ün yapısal olmayan proteinlerinden biri olan NSP4 proteindir. Yapılan çalışmalarda farelere enjekte edildiğinde ishale sebep olduğu ve toksin benzeri aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. NSP4 endoplazmik retikulumdaki depo kalsiyum iyonu mobilizasyonunu sağlayarak intraselüler kalsiyum değerini artırmak suretiyle bozar. Kalsiyum dengesinin artmış yönde bozulmasıyla hücre iskelet yapısında değişiklikler meydana gelir, disakkaridazların sentezi azalır, ayrıca sodyum ve solüt transferi engellenir. Eş zamanlı olarak NSP4 enfekte hücreden ortama salınır ve enfekte olmamış diğer hücrelerde toksinin benzer etkileri görülür. Enterik sinir sisteminin uyarılması olası *Rotavirüs* patogenezi mekanizmaları arasında düşünülebilir (632).

Her ne kadar sekrete edilen NSP4'ün kesin görevi ve hedefi bilinmese de, enterik sinir sistemi (ENS) ile birlikte NSP4 sekresyonda rol alan esas moleküldür. NSP4'ün tabloyu ağırlaştırıcı etkisinin olabileceği düşünülmektedir. NSP4 kript hücrelerinde kalsiyum iyonu artışını uyarıp Cl sekresyonunu aktifleştirerek hücrenin su kaybetmesine neden olmaktadır. NSP4'ün tek başına bir kanal oluşturarak veya kalsiyum artışı vasıtasıyla anyon kanalını aktifleştirerek etki

edebileceği düşünülmektedir. NSP4'ün enterositler üzerindeki bir başka etkisi ise "tight junctionlar" üzerinedir. Böylece hücreler arasından bol miktarda sıvı ve elektrolit kaybı meydana gelmektedir. Gastrointestinal sistemde villus epitelinin altındaki katman sinir ağı bakımından oldukça zengindir ve enterik sinir sistemi (ENS) olarak adlandırılır. NSP4 enterokromafin hücrelere bağlanır ve bu hücrelerden 5- hidroksitriptamin (5-HT) salınmasını sağlayarak ENS'yi uyarır. Bunun yanı sıra enfekte hücrelerden salgılanan kemokin ve prostaglandinler tarafından ENS uyarılabilir. ENS'nin uyarılması kript hücrelerinden sıvı ve elektrolit salgılanmasının majör tetikleyicisidir. Böylece NSP4 ve ENS'nin *Rotavirüs* enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan sekretuar tabloda rol oynayan iki önemli molekül olduğu görülmektedir (633).

Enfekte hücrelerin viral invazyonu ile birlikte lokal villus iskemisi gelişeceğinden enterositler normal fonksiyonlarını yerine getiremeyeceklerdir. Villuslerde oluşan bu iskemik hasar kompensatuvar hücre bölünmesini stimüle eder ve *Rotavirüs* enfeksiyonlarında barsak geçiş zamanı azalır, bu durum barsak motilitesinin arttığının bir göstergesidir. Her ne kadar motilitenin ENS tarafından kontrol edildiği bilinen bir gerçek olsa da moleküler stimülatörünün ne olduğu gizliliğini korumaktadır (634).

1.4.4.4. Epidemiyoloji

Rotavirüs dünya çapında çocuklarda şiddetli gastroenteritin en yaygın nedeni olmuştur (635), bununla birlikte, bebeklerin büyük bir kısmını *Rotavirüs* 'lere karşı başarılı bir şekilde bağışıklayan ülkelerde *Rotavirüs* gastroenteriti önemli ölçüde azalmıştır (636).

Küçük çocuklar *Rotavirüs* enfeksiyonu açısından risk altındadır. Şiddetli *Rotavirüs* gastroenteriti genellikle altı ay ile iki yaş arasında immünolojik olarak zayıf çocuklarda görülür (637). Büyük çocuklar ve yetişkinler arasında tekrarlanan enfeksiyon genellikle asemptomatik veya hafif ile orta şiddette olmaktadır (638).

Sağlık hizmeti sağlayıcıları da dahil olmak üzere, enfekte hastalara bakan herkes enfeksiyon riski altındadır ve hastane enfeksiyonu ortaya çıkabilir (638).

Rotavirüs iletimi fekal-oral yoldan gerçekleşir, maruz kalma süresi 20 dakikadan az ve inkübasyon süresi 48 saatten azdır (638). Dışkıda viral dökülme yaklaşık 10 gün sürer; bir çalışmada bağışıklığı yeterli çocukların üçte birinde en az 21 gün boyunca viral dökülme saptanmıştır (639).

Tropikal bölgelerde, enfeksiyon yıl boyunca görülür. Ilıman iklimlerde, *Rotavirüs* enfeksiyonu daha soğuk aylarda zirve yapar (örneğin, ABD'de Aralık-Nisan aylarında) (640). ABD ve Avrupa'da *Rotavirüs* enfeksiyonları ülke genelinde her yıl batıdan doğuya doğru bir dalga halinde yayılır; bunun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (640).

1.4.4.5. Klinik

Rotavirüs enfeksiyonu çocuklar arasında daha sık görülür ancak yetişkinlerde de görülür. İmmün sistemi baskılanmış hastaların ciddi ve uzun süreli bir enfeksiyon geliştirmesi daha olasıdır. *Rotavirüs* enfeksiyonu olan çocuklar arasında tipik semptom ve bulgular arasında kusma, sulu kanlı ishal ve ateş bulunur (641). Ağır vakalarda dehidratasyon, nöbetler ve ölüm meydana gelebilir (642).

Akut gastroenterit ile hastanede yatan çocuklarla yapılan bir çalışmada gözlemlenen ortalama semptom süresi sekiz gündür (643). Bununla birlikte, hafif hastalık sadece birkaç gün sürebilir ve tersine uzun süreli hastalık ortaya çıkabilir. *Rotavirüs* enfeksiyonu olan çocukların %30 ile %50'sinde solunumsal belirti ve semptomlar görülebilir, ancak bu semptomların *Rotavirüs* 'ten kaynaklanıp kaynaklanmadığı belirsizdir ve varsa altta yatan asidozu yansıtabilir. Hem solunum hem de gastrointestinal virüslerle eş zamanlı enfeksiyon da görülebilir (644).

Nörolojik komplikasyonlar *Rotavirüs* gastroenteriti olan çocukların %2 ile %3'ünde görülür. Nöbetler yaygın olarak görülebilir; daha az sıklıkta *Rotavirüs* akut ensefalopatiye veya frank ensefalite neden olabilir (645).

Yetişkinlerde *Rotavirüs* enfeksiyonu tipik olarak hafiftir ve genellikle etkilenen çocukların ev halkı arasında görülür (646). *Rotavirüs* gezginlerin ishali ve yatılı okulların ve bakım evlerinde gastroenterit salgınlarının bir nedeni olarak gösterilmiştir (647-649) .

Yetişkinlerde klinik belirtiler çocuklardakine benzer ancak genellikle daha az şiddetlidir (646). Yetişkinler arasında şiddetli ishal hipovolemi ile tanımlanmıştır (650).

İmmünsüpresyonu olan hastalar; kanserli çocuklar arasında *Rotavirüs* enfeksiyonu, bir hafta sürebilen ve yüksek ateş, dehidrasyon ve asidoz ile ortaya çıkan ishale neden olur (651). İmmün sistemi baskılanmış çocuklarda, özellikle T hücresi immün yetmezliği veya şiddetli kombine immün yetmezliği olanlarda ve kemik iliği transplantasyonundan sonra *Rotavirüs* nedeniyle şiddetli ve uzun süreli gastroenterit bildirilmiştir. Bu durumlarda, *Rotavirüs* enfeksiyonu şiddetli hastalık ve uzun süreli atılım ile ilişkili olabilir; bazı durumlarda ölümcül olabilir. Organ nakli sonrası çocuklar arasında *Rotavirüs* enfeksiyonu genellikle normal çocuklarda enfeksiyondan daha şiddetlidir, ancak genellikle kendi kendini sınırlar. *Rotavirüs* HIV enfeksiyonu olan hastalarda şiddetli veya kalıcı ishalin yaygın bir nedeni değildir (652).

Laboratuvar bulguları genellikle normaldir. Laboratuvar çalışmaları, metabolik asidoz, elektrolit bozukluğu ve şiddetli veya uzun laktoz intoleransı şüphesi olan durumlar için yararlı olabilir. Yüksek kan üre azotu ve metabolik asidoz ile dehidrasyon sık rastlanan bulgulardır. Hipokalsemi de gözlenmiştir (653).

Komplike olmayan vakalarda periferik kan lökosit sayıları genellikle normaldir, bu da *Rotavirüs* enfeksiyonunu, olgunlaşmamış formlara sahip nötrofili gözlemlenebilen belirli bakteriyel gastroenterit nedenlerinden ayırt etmeye yardımcı olabilir. Akut hastalık sırasında başka karaciğer hasarı kanıtı olmaksızın serum aspartat aminotransferazda hafif yükselmeler gözlenmiştir; bu yükselmeler bağırsak epitel hücrelerine verilen zararı gösterir (654).

Örneklerin yaklaşık üçte birinde minimal ve orta derecede dışkı lökositleri görülür (646). Çok sayıda fekal lökosit, *Salmonella*, *Campylobacter* veya *Shigella* gibi invaziv bir patojen ile enfeksiyon veya koenfeksiyon olabilir (655).

Nekrotizan enterokolit (NEC) yenidoğanlarda nozokomiyal *Rotavirüs* enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. 15 nekrotizan enterokolit veya hemorajik gastroenterit olgusu ve 147 asemptomatik veya minimal semptomatik bebek vakası

içeren bir hastanede yenidoğan yoğun bakım ünitesinde, vakaların yüzde 73'ünde *Rotavirüs* gözlenmiştir (656).

Sitokinler, eşlik eden NEC ve *Rotavirüs* enfeksiyonunun patogenezinde rol oynayabilir. Yapılan bir çalışmada, NEC ile beraber *Rotavirüs* enfeksiyonu olan hastalarda, *Rotavirüs* enfeksiyonunun eşlik etmediği NEC hastalarına göre interlökin (IL) -8 ile tümör nekroz faktörün (TNF) arttığı buna karşılık IL-6'nın ise azaldığı tespit edilmiştir. NEC'nin şiddeti *Rotavirüs*'ün varlığı ile ilişkili kanıtlanamamıştır (657).

Rotavirüs enfeksiyonu ve intususepsiyon arasındaki ilişki belirsizdir. *Rotavirüs* gastroenteriti ile ilişkili olarak ince bağırsak enfeksiyonuna bağlı gastrointestinal obstrüksiyon tarif edilmiştir; mekanizma, viral enfeksiyon ortamında ince bağırsağın lokalize ödeminin gelişimine bağlanmıştır. Ancak, daha sonraki çalışmalar iki durum arasında kesin bir ilişki ortaya koymamıştır (658).

Rotavirüs enfeksiyonu ile biliyer atrezi arasındaki ilişki belirsizdir. Biliyer atrezi *Rotavirüs* enfeksiyonu ile ilişkili olarak tanımlanmıştır ve bazı hastalarda biliyer dokuda *Rotavirüs* antijeni saptanmıştır. Ancak, diğer çalışmalar iki durum arasında kesin bir ilişki ortaya koymamıştır. Bir çalışmada, safra atrezisi olan veya olmayan kolestatik yenidoğanlarda serum antikor düzeyleri *Rotavirüs* A ve C'ye karşı fark saptanmamıştır (659).

Rotavirüs gastroenteriti, nöbetler ve ensefalopati dahil merkezi sinir sistemi komplikasyonları ile ilişkili olabilir. *Rotavirüs* bazı vakalarda beyin omurilik sıvısında (BOS) polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu tür bir tespitin merkezi sinir sisteminde viral replikasyonu, lomber ponksiyon sırasında kontaminasyonu veya VF RNA'nın BOS lenfositlerinde taşınmasını yansıtmayı yansıtmadığı belirsizdir. Nöbetler veya apne ve beyaz cevher yaralanması ile başvuran 18 yenidoğan içeren bir olgu serisinde, dışkı vakaların %94'ünde rotavirüs PCR için pozitif bulunmuş; hiçbir hastada *Rotavirüs* için BOS veya serum pozitif olmamıştır (660).

Çoğu birey *Rotavirüs* gastroenteritinden tamamen iyileşir. Bazı vakalarda uzun süreli ishal veya gastroparezi gibi kalıcı semptomlar gözlenmiştir. Ayrıca,

ishalin düzelmesinden sonra karbonhidrat veya laktaz intoleransı devam edebilir (661).

1.4.4.6. Tanı

Rotavirüs gastroenterit tanısı klinik semptomları olan hastalarda *Rotavirüs*'ün saptanmasını gerektirir. Dışkıda *Rotavirüs*'ün saptanması için kullanılan teknikler arasında immün bazlı analizler (enzime bağlı immünosorban test [ELISA] ve lateks aglütinasyon testi gibi) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi nükleik asit testleri yer alır. ELISA ve lateks aglütinasyon en sık kullanılan tahlillerdir; PCR en hassas olanıdır (662).

Hastalığın ilk üçüncü ile beşinci günlerinde toplanan gaita seçilen numunedir. Semptom başlangıcından 8 gün sonrasında toplanan numuneler ender olarak virüs içermektedir. Dışkı örneklerinde virus partikülleri elektron mikroskobi ve immünelektromikroskobi kullanılarak gösterilebilir, ancak bu teknikler rutin olarak kullanılmaz. *Grup A Rotavirüs* önceden proteolitik enzim tripsin ile muamele edilirse veya besiyerine düşük düzeyde tripsin ilave edilirse hücre kültüründe üretilir, ancak daha çok araştırma amacıyla bazı merkezlerde yapılmaktadır. Virüs izolasyonu için en sık kullanılan hücreler maymun böbrek hücre dizisi MA104 ve insan kolon karsinoma hücre dizisi CaCo-2'dir. Sitopatik etki minimaldir. Enfekte hücrelerde rotaviral antijenlerin tespiti için immunofloresan testi ve serotipi belirlemede nötralizasyon testi kullanılır (555, 616).

Serolojik testler, bilhassa ELISA ve lateks aglütinasyon testleri antikor seviyesinin artışının saptanması için kullanılabilir, ancak her daim klinik olarak yararlı değildir (555, 616).

Dışkı örneklerinde *Rotavirüs* antijenlerinin tespiti için ELISA ve lateks aglütinasyon kitleri ticari olarak mevcuttur. Oldukça ucuz, yüksek sensitivite ve spesifite ile %70-100 hızlı tanıya imkan verir. Buna karşılık ticari testler ile yeni doğan ve erken çocukluk döneminde gastroenteritin en yaygın sebebi olan sadece *Grup A Rotavirüs*'leri tespit edilir. Yeni doğanlar ve anne sütü ile beslenen çocuklarda yalancı pozitif sonuçlar alınabilir. B ve C grubu *Rotavirüs*'ler VP6

antijenlerine karşı grup spesifik antikorların kullanıldığı IFA ve ELISA ile birbirinden ayrılabilir. Ayrıca özellikle G1-G4 monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA ile serotipleme yapılabilir. Testin performansını optimize etmek için örnekler semptomatik dönemde alınmalıdır. Örnekler hemen çalışılmayacaksa 4°C’de tutulabilir veya dondurulabilir (616). *Rotavirüs* spesifik cDNA problemleri ile nükleik asit hibridizasyon testleri ve *Grup A Rotavirüs*’ler için oligonükleotid microarray hibridizasyon testleri genotipleme için kullanılır. Nükleik asit hibridizasyon ve RT-PCR antijen tespit metodlarına göre daha duyarlıdır. Çevre ve yiyecek analizi için çoğunlukla RT-PCR kullanılır (555, 616).

Elektrofenotipleme ile dışkı örneklerindeki RNA izolatlarının poliakrilamid jel elektroforezinde karakteristik göç paterni tespit edilerek *Nongrup A Rotavirüs*’leri, *Grup A Rotavirüs*’lerinden ayırt edilebilir. Sensitivitesi %90’dan fazla ve spesifitesi %100’dür (555, 616).

Viral dökülme, PCR yoluyla ELISA’dan daha uzun bir süre boyunca saptanabilir; bu dökülmenin klinik önemi belirsizdir. *Rotavirüs*’ün dışkıda asemptomatik olarak atılımı nispeten yaygındır ve büyük olasılıkla bulaşmada rol oynar (663).

1.4.4.7. Tedavi

Rotavirüs enfeksiyonunun klinik yönetimi, diğer viral gastroenterit tipleri için tarif edildiği gibidir. *Rotavirüs* tedavisi destekleyicidir, sıvı ve elektrolit kayıplarının yerine konulmasını içerir (664). Oral rehidratasyon sıvıları (ORS) hafif ve orta derecede dehidrate çocukların tedavisinde genellikle yeterlidir. Damar içi sıvılar ağır ishalli, durdurulamayan kusmaları, şuur değişiklikleri olan veya sıvıları içermeyen çocuklarda tercih edilmelidir (665). Gıda desteği de önemlidir, morbidite ve mortalite üzerine etkilidir. ORS sıvıları düşük kalori içerdiği için beslenmenin erken dönemde başlaması önemlidir. *Rotavirüs* enfeksiyonları için önerilen herhangi bir antiviral ajan yoktur (665).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma prospektif ve hastane bazında bir çalışmadır. Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı'nda Ocak 2020-Eylül 2020 tarihleri arasında yapılmıştır.

Fırat Üniversitesi Hastanesi çocuk ve erişkin poliklinikleri, acil servisleri ve kliniklerine ishal şikayeti ile başvuran hastalarda viral, bakteriyel ve paraziter etiyolojik ajanların belirlenmesi amacıyla Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kabul edilen 100 hastanın dışkı örnekleri incelendi. Bakteriyel gastroenterit etkenlerinden olan *Salmonella spp.* , *Shigella spp.* , *C. jejuni*, *C. difficile*, *Shiga like toksin üreten E. coli*, paraziter etkenlerden *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* ve viral etkenlerden *Rotavirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *Adenovirüs* card test, Real Time PCR ve direkt mikroskopi kullanılarak tanımlanmıştır.

Çocuk, erişkin poliklinik ve servislerinden steril, sızdırmaz kapaklı dışkı kaplarında yeterli miktarda en az yaklaşık 1 gr olacak şekilde ishalleri dışkı örnekleri toplandı. Örnekler dışkının varsa kanlı ve/veya mukuslu bölgelerinden alındı. Örnekler laboratuvara geldiği gün çalışılmıştır.

Çalışmamızın etik kurulu onayı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurulundan alınmıştır (18/11/2019 tarihli ve 360175 sayılı). Proje FÜBAP tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

2.1. Direkt Mikroskobik İnceleme

Laboratuvara iletilen dışkı, gelen taze dışkı örneğinden alınan küçük bir parça, lama daha önce damlatılmış 1 damla %0,9'luk NaCl ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Lam lamel arası preparat hazırlanarak 10 x ve 40 x objektifle inceleme yapıldı. Örneklerin eritrosit, lökosit içeriği değerlendirildi. Ayrıca parazit yumurtaları da incelendi.

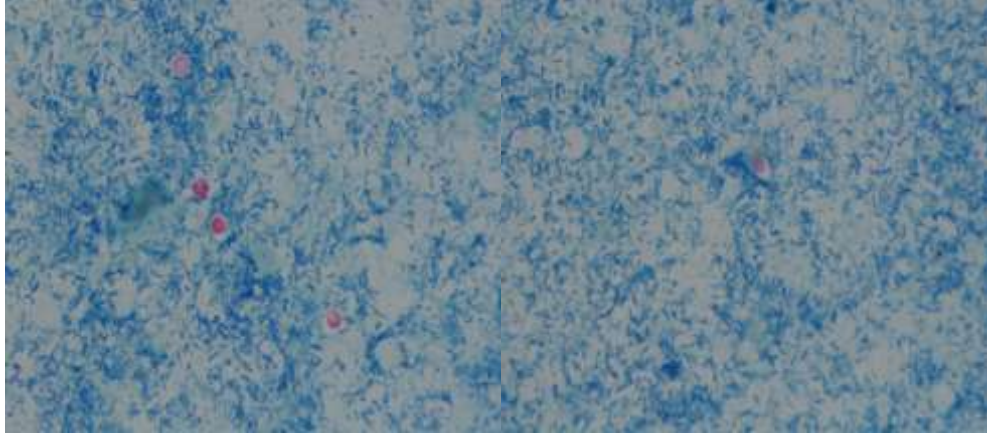
2.2. Lugol Yöntemi

Bu yöntem, kistlerin iç yapılarının ayrıntılı olarak görülmesi ve birbirlerinden ayırt edilmesini sağlamak amacı ile kullanıldı. Solüsyonun hazırlanması; 1 gr potasyum iyodür 100 ml distile su içinde çözdürüldü, doymuş solüsyon elde edilinceye kadar 1,5 gr iyot kristali eklendi ve solüsyon koyu renkli bir şişede saklandı. İnceleme için uygun miktarda dışkı ile 1 damla lugol solüsyonu, temiz bir lam üzerinde karıştırılıp, lamelle kapatılarak önce x10, ardından x40 büyütmeli objektif ile ayrıntılı bir şekilde incelendi.

2.3. Modifiye Kinyoun Asid Fast Boyama

1. İshalli gaita örneklerinden temizlenmiş ve silinmiş lam üzerinde kalın olmayan yayma preparat hazırlandı ve kuruması sağlandı.
2. %96-100'lük metanolde üç dakika tutularak veya alevden üç kez geçirilerek tespit edildi.
3. Preparata Kinyoun's karbol fuksin boyası döküldü ve yaklaşık 5 dakika bekletildi bu esnada preparat alttan kaynamayacak şekilde ısıtıldı. Boyalı preparat yıkandı. Yıkama işlemine yıkama suyunun rengi renksiz oluncaya kadar devam edildi.
4. Preparat %50 aseton alkolde 3-5 saniye tutulup musluk suyunda yıkandı.
5. Preparat üzerine %1'lik H₂SO₄ döküldü, 2-3 dakika beklendi. Musluk suyunda yıkandı.
6. Preparat üzerine metilen mavisi döküldü, 1 dakika beklendi. Musluk suyu ile yıkandı.
7. Preparat havada kurutulduktan sonra immersiyon yağı dökülerek önce X40'lık objektifte, daha sonra X100 objektifte ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Çalışmamızda modifiye kinyoun asid fast boyaması sonrası *C. parvum* ookistinin mikroskopik görünümü resim 1'de gösterilmiştir.



Resim 1. *Cryptosporidium parvum* ookistinin mikroskopik görünümü

2.4. Moleküler Tanı

Bu çalışmada Real-Time PCR temelli BD MAX Enterik Bakteriyel Panel kitleri kullanılarak dışkı örneklerinden *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Shiga toksin üreten E. Coli* ve *C. jejuni* çalışıldı. BD MAX enterik bakteriyel paneli cihazı resim 2’de gösterilmiştir.



Resim 2. BD MAX enterik bakteriyel panel

2.4.1. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel Sistemi İçeriği ve Kullanılan

Ekipmanlar

- TaqMan spesifik moleküler prob ve primerlerle birlikte örnek işleme kontrolüne spesifik TaqMan probu ve primerleri içeren yeşil folyo mastermix tüpleri
- DNA ekstraksiyonu için gerekli tüm sıvı reaktifler ve tek kullanımlık pipet uçlarını içeren ünitelendirilmiş reaktif stripleri
- BD MAX Enterik Bakteriyel Panel beyaz folyo olan ekstraksiyon tüpleri
- BD MAX Enterik Bakteriyel Panel sample buffer tüpleri
- Septum kapağı
- BD MAX PCR Cartridges
- VWR oklu tp Vorteks Karıştırıcı
- Vortex Genie 2
- Nalgene kriyojenik flakon tutucu
- Çok Tüplü vorteks karıştırıcıile uyumlu rak
- Tek kullanımlık 10 μ L inokülasyon zeleri
- Laboratuvar önlüğü ve pudrasız tek kullanımlık eldivenler

2.4.2. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel Testi alışma Yöntemi

Laboratuvara gelen taze dışkı örnekleri vortekslendi, 10 μ L ze ile alınan rnek BD MAX Sample Buffer Tube'e aktarıldı ve iyice karıştırıldı. Sample Buffer Tube, septum bir başlık ile kapatıldı ve bakteri organizmaların lizisini kolaylaştırmak için BD Pre-warm Heater'da ısıtıldı. Isıtma işleminin ardından Sample Buffer Tube vortekslenerek BD MAX Sistemi'ne aktarıldı. rnek, BD MAX Enterik Bakteriyel Panel Unitized Reagent Strip ve PCR Cartridge ile birlikte BD MAX cihazına yüklendikten sonra çalışma başlatıldı.

BD MAX sistemi hedef organizma lizisi, DNA ekstraksiyonu ve konsantrasyonu dahil örnek hazırlanmasını, reaktif rehidrasyonu, hedef nükleik asit sekansının amplifikasyonunu, gerçek zamanlı PCR kullanılarak saptanmasını ve sinyalin yorumlanmasını otomatik olarak gerçekleştirir. BD Pre-warm Heater'da,

yüksek bir sıcaklıkta enzimatik hücre lizisi sonrasında serbest kalan nükleik asitler manyetik afinite boncuklarında yakalanır. Bağlı nükleik asitlerin bulunduğu boncuklar yıkanır ve nükleik asitler Elüsyon Tamponu'nda ısıyla ve yüksek pH ile elüsyona uğrattılır. Elüe edilmiş DNA nötralize edilir ve PCR reaktiflerinin rehidrasyonu için Master Mix Tube içine aktarılır. Rehidrasyon sonrasında, BD MAX Sistemi BD MAX PCR Cartridge'a PCR için sabit bir hazır solüsyon hacmi verir. BD MAX PCR Cartridge'daki mikrovalfler PCR başlamadan önce amplifikasyon karışımını sınırlamak ve böylece buharlaşma ve kontaminasyonu önlemek için sistem tarafından mühürlenir. Amplifiye DNA hedefleri bir uçta söndürücü kısım ve öteki uçta bir floresan raportör boya (florofor) ile etiketlenmiş hidroliz (TaqMan) problemleriyle saptanır. Farklı floroforlarla etiketlenmiş problemler, BD MAX Sistemi'nin dört farklı optik kanalında enterik bakteri hedeflerini (*Salmonella spp.* , *Shigella spp.* , *Shiga Toksin üreten E. coli*, *C. jejuni* spesifik DNA fragmanından SSU rRNA genleri) saptamak amacıyla kullanılır. Problemler doğal durumundayken florofor floresansı söndürücüye yakınlığı nedeniyle söndürülür. Ancak hedef DNA varlığında problemler tamamlayıcı sekanslarına hibridize olur ve DNA polimerazın, DNA şablonu boyunca yeni oluşan iplikçiği sentezlerken 5'-3' ekzonükleaz aktivitesi ile hidrolize uğrar. Bunun sonucunda floroforlar söndürücü moleküllerden ayrılır ve floresan yayılır. BD MAX Sistemi bu sinyalleri her döngüde izler ve program sonunda verileri son sonuçları raporlamak üzere yorumlar. Doğrudan örnek üzerinde yapılan bu testte spesifik hedeflerin amplifikasyonu için gerçek zamanlı (real-time) PCR (RT-PCR) kullanılır. Testte amplifiye DNA'nın saptanması için florojenik gene özgü hibridizasyon problemleri kullanılır. Bu test ayrıca ekstraksiyon tüpünde bulunan ve ekstraksiyon, konsantrasyon ve amplifikasyon adımlarına tabi olan bir internal kontrolü içerir. Internal kontrol, potansiyel inhibitör maddelerin varlığını ve sistem veya reaktif arızalarını izlemek için lizis, ekstraksiyon, konsantrasyon ve amplifikasyon adımlarına dahil edilmiştir. Çalışma sonunda, BD MAX sistemi bilgisayar programı tarafından otomatik olarak, hedef ve internal kontrol amplifikasyonunu temel alarak, negatif, pozitif ve geçersiz sonuç olarak verilen test sonuçları değerlendirildi. BD MAX sistemin prosedürü ve test sonuçları yaklaşık

2,30 saatte gerçekleştirildi. Sinyallerin amplifikasyonun saptanmasının sonuçları BD MAX sistemi tarafından otomatik olarak raporlandı.

2.5. İmmünokromatografik Yöntemler

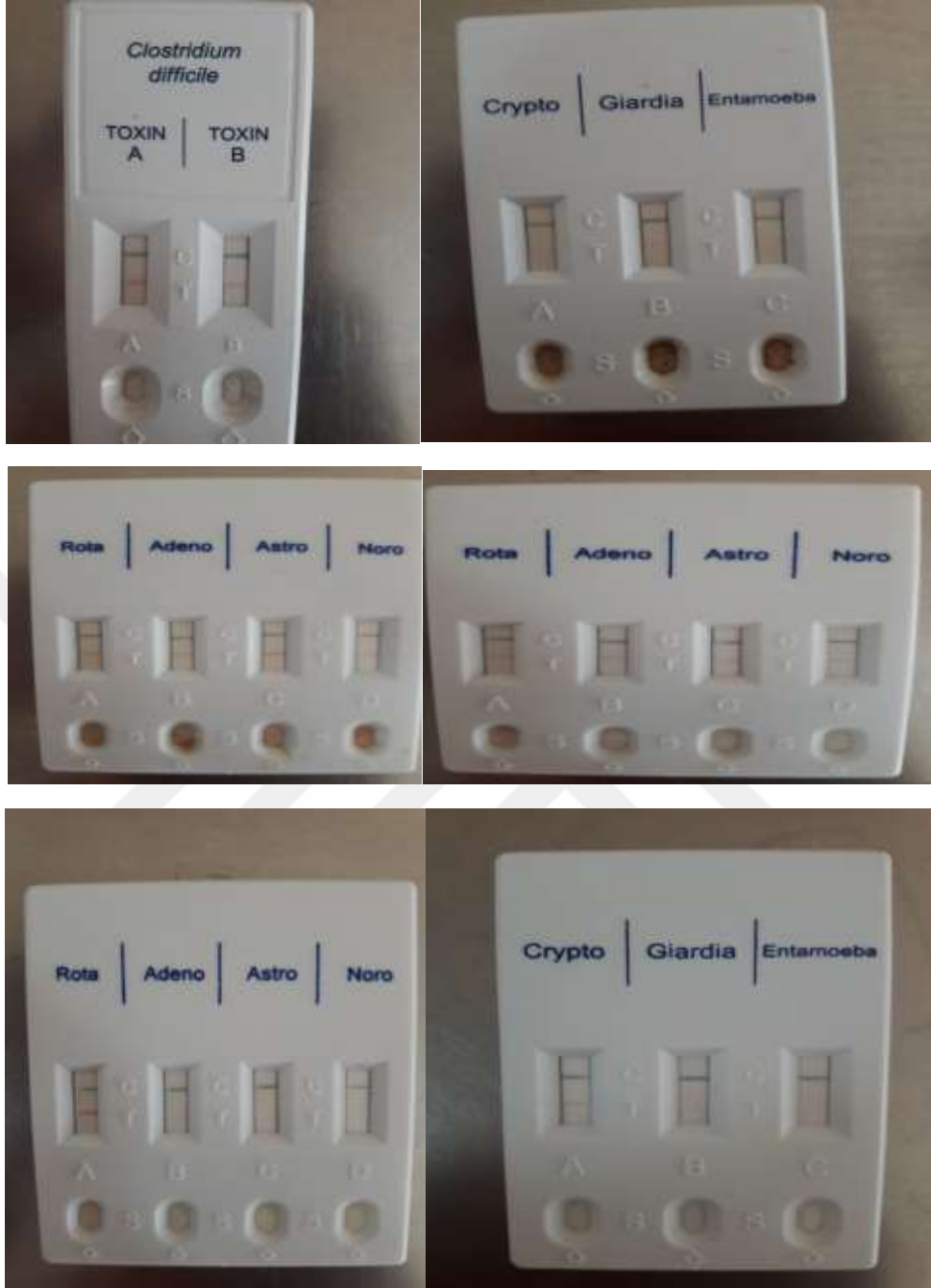
Hastaların dışkı örneklerinde *Rotavirüs*, *Adenovirüs*, *Norovirüs*, *Astrovirüs*, *G. intestinalis* (*G. lamblia*), *E. histolytica*, *C. parvum*, *C. difficile* A-B toksini antijenleri immünokromatografik yöntem ile (CerTest Biotec Combo card Test) üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. Çalışmamızda kullandığımız CerTest Biotec Combo card test kitleri resim 3’te gösterilmiştir.

Testin uygulanması:

- 1. Gaita örneğini sulandırma:** Kit içerisinde bulunan dilüentlere 50 mg gaita örneği eklenerek karıştırılmış ve homojenize edilmiştir.
- 2. Test kartına ekim:** Test kasetinde bulunan sample kuyusuna 2 damla süspanse edilen gaita örneği eklenmiştir. 10 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra okuma yapıldı. Yeşil çizgi oluşumu *Rotavirüs*, *Adenovirüs*, *Norovirüs*, *Astrovirüs*, *G. lamblia*, *E. histolytica*, *C. parvum*, *C. difficile* A-B toksini için sonucun negatif, kırmızı ve yeşil çizgi oluşumu sonucun pozitif olduğunu gösterir. Kontrol bölümünde çizgi oluşmazsa test geçersiz sayılır. Çalışmamızda CerTest Biotec Combo card test kitleri patojenlerin pozitif ve negatif sonuçları resim 4’te gösterilmiştir.



Resim 3. Çalışmamızda kullanıldığımız CerTest Biotec card test kitleri



Resim 4. CerTest Card Test yöntemi ile bakılan parazit virüs ve *C. difficile* toksin A ve B'nin tespiti.

2.6. İstatistiksel Analiz

Araştırmanın verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 26,0 istatistik programı kullanılmıştır. Veriler tanımlayıcı istatistiksel analizler kullanılarak sıklık ve yüzde kullanılarak sunuldu. Yaş grupları, cinsiyet gibi kategorik verilerin değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p \leq 0,05$ belirlenmiştir.



3. BULGULAR

Araştırmanın yapıldığı Ocak 2020–Eylül 2020 tarihleri arasında, ishal tanısı alıp çocuk acil, erişkin acil ve çocuk ile erişkin kliniklerine başvuran hastalardan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen 100 ishalleri dışkı incelenmiştir. Dışkı örneği incelenen hastaların yaş dağılımı, cinsiyet ve oranları ile ilgili demografik veriler tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Demografik veriler

Örneklerin Dağılımı		Kadın		Erkek		Toplam Hasta	
Yaş Grubu	N	n	%	n	%	N	%
0-5 yaş	34	19	38.8	15	%29,4	34	%34
5-18 yaş	14	5	10.2	9	%17,6	14	%14
18 yaş üzeri	52	25	51	27	%52,9	52	%52

Bakteriyel diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Bakteriyel diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı

	<i>Salmonella</i> spp.		<i>Shigella</i>		<i>EHEC Shiga like toksin</i>		<i>Campylobacter jejuni</i>		<i>C. difficile toksin A</i>		<i>C. difficile Toksin A+B</i>	
	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K
Pozitif	1	0	0	1	3	6	8	4	8	7	6	6
Negatif	50	49	51	48	48	43	43	45	43	42	40	41
Toplam sayı	51	49	51	49	51	49	51	49	51	49	51	49
Oran	%1,96	0	0	%2,04	%5,88	%12,24	%15,68	%8,16	%15,68	%14,28	%11,76	%12,24
P değeri	P=0,98		P=0,98		P=0,44		P=0,6		P=0,93		P=0,81	

E: Erkek, K: Kadın

Paraziter diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Paraziter diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı

	<i>G. intestinalis</i>		<i>C. parvum</i>		<i>E. histolytica</i>	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Pozitif	1	0	0	1	0	0
Negatif	50	49	51	48	51	49
Toplam sayı	51	49	51	49	51	49
Pozitif Yüzdelik	%1,96	0	0	%2,04	0	0
Oran						
P değeri	P=0,98		P=0,98		P=0,92	

Viral diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Viral diyare etkenlerinin cinsiyete göre dağılımı

	<i>Norovirüs</i>		<i>Astrovirüs</i>		<i>Rotavirüs</i>		<i>Adenovirüs</i>	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Pozitif	2	4	1	4	7	9	2	6
Negatif	49	45	50	45	44	40	49	43
Toplam	51	49	51	49	51	49	51	49
sayı								
Pozitif	%3,92	%8,16	%1,96	%8,16	%13,72	%18,36	%3,92	%12,24
Yüzdelik								
Oran								
Pdeğeri	P=0,63		P=0,33		P=0,71		P=0,24	

Viral diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Viral diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı

	<i>Norovirüs</i>			<i>Astrovirüs</i>			<i>Adenovirüs</i>			<i>Rotavirüs</i>		
	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üstü	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üstü	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üstü	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üstü
Pozitif	0	0	6	0	0	5	2	0	6	3	3	10
Negatif	34	14	46	34	14	47	32	14	46	31	11	4
Toplam	34	14	52	34	14	52	34	14	52	34	14	52
sayı												
Pozitif	0	0	%11,53	0	0	%9,61	%5,88	0	%11,53	%8,82	%21,42	%19,23
Yüzdelik												
Oran												
Pdeğeri	P=0,052			P=0,08			P=0,31			P=0,38		

Paraziter diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Paraziter diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı

	<i>C. parvum</i>			<i>E. histolice</i>			<i>G. intestinalis</i>		
	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üzeri	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üzeri	0-5 yaş	5-18 yaş	18 yaş üzeri
Pozitif	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Negatif	34	13	52	34	14	52	33	14	52
Toplam	34	14	52	34	14	52	34	14	52
sayı									
Pozitif	0	%7,14	0	0	0	0	%2,94	0	0
Yüzdelik									
Oran									
Pdeğeri	P=0,044			P=0,0001			P=0,37		

Bakteriyel diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Bakteriyel diyare etkenlerinin yaşa göre dağılımı

	<i>Salmonella</i>			<i>Shigella</i>			<i>EHEC Shiga like toksin</i>			<i>C. jejuni</i>		
	0-5 yaş	5-18 yaş	18yaş üzeri	0-5 yaş	5-18 yaş	18yaş üzeri	0-5 yaş	5-18 yaş	18yaş üzeri	0-5 yaş	5-18 yaş	18yaş üzeri
Pozitif	0	1	0	0	0	1	3	1	5	6	2	4
Negatif	34	13	52	34	14	51	31	13	47	28	12	48
T.Sayı	34	14	52	34	14	52	34	14	52	34	14	52
Pozitif	0	%7,14	0	0	0	%1,92	%8,82	%7,14	%9,61	%17,64	%14,28	%7,69
Yüzdelik												
Oran												
P Değeri	P=0,04			P=0,62			P=0,95			P=0,54		

Clostridium diffcilenin yaşa göre dağılımı tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. *Clostridium diffcilenin* yaşa göre dağılımı

	<i>C. diffcile Toksin A</i>			<i>C. diffcile Toksin B</i>		
	0-5yaş	5-18yaş	18yaş üzeri	0-5yaş	5-18yaş	18 yaş üzeri
Pozitif	7	2	18	3	1	8
Negatif	27	12	34	31	13	44
T.Sayı	34	14	52	34	14	52
Pozitif	%20,58	%14,28	%34,61	%8,82	%7,14	%15,38
Yüzdelik						
Oran						
P Değeri	P=0,18			P=0,54		

Diyare etkenlerine göre direkt mikroskobide saptanan bulgular tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Diyare etkenlerine göre direkt mikroskobide saptanan bulgular

	Lökosit ve eritrosit yok	1-5 arası lökosit ve eritrosit yok	1-5 arası lökosit ve bol eritrositt	5-10 arası lökosit ve eritrosit yok	5-10 arası lökosit ve 1-5 arası eritrosit	5-10 arası lökosit ve 5-10 arası eritrosit	Bol lökosit ve eritrosit yok	Bol lökosit ve 1-5 arası eritrosit	Bol lökosit ve 5-10 arası eritrosit	Bol lökosit ve bol eritrosit	Nişasta(+) ve yağ(+)	Protozoon kisti(+) ve bol	Bol candida	TOPLAM
<i>Salmonella</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Shigella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>EHEC</i> <i>Shiga-like</i> <i>toksin</i>	1	2	0	1	0	0	2	3	0	0	0	0	0	9
<i>C. jejuni</i>	1	4	0	1	1	0	1	2	0	1	1	0	0	12
<i>C. difficile</i> Toksin a	2	3	0	3	0	0	1	2	0	3	0	0	1	15
<i>C. difficile</i> Toksin a+b	0	0	0	2	0	0	3	1	0	6	0	0	0	12
<i>Rotavirüs</i>	3	2	0	1	0	0	2	2	0	5	0	0	1	16
<i>Adenovirüs</i>	2	0	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0	1	8
<i>Norovirüs</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0	1	6
<i>Astrovirüs</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0	0	5
TOPLAM	31	16	1	7	2	1	14	9	1	15	1	1	1	

Çalışmamızda bakteriyel diyare etkenlerinin mikroskopik incelemesinde 4 hastada eritrosit veya lökosit saptanmamıştır. *C. jejuni*nin diyare etkeni olduğu bir hastanın mikroskopik incelemesinde nişasta ve yağ gözlenmiş ayrıca başka bir hastada da bol lökosit ve bol eritrosit izlenmiştir.

Çalışmamızda viral diyare etkenlerinin mikrobiyolojik incelenmesinde 14 hastada bol lökosit ve bol eritrosit, 3 hastada da *Candida* gözlemlenmiştir.



4. TARTIŞMA

Akut diyare, düşük, orta gelişmiş ülkelerde ve yüksek gelişmiş ülkelerde yaygın görülen şikayetler arasındadır. İshale bağlı hastalıklar, 5 yaşından küçük çocuklarda ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada izlenmektedir. İshalle seyreden hastalıklar az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölüme neden olarak 2. sırada yer alır (666).

Bulaşıcı hastalıklar az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir. Tüm dünyada sık rastlanan hastalıklardan olan solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada ishal ile seyreden hastalıklar yer alır. Alt yapı kaynaklarının yetersiz olduğu ve buna bağlı olarak güvenli olmayan su ve gıda kaynakları (özellikle oral-fekal bulaşan) tüm hastalıklar için en önemli risk faktörüdür. Geri kalmış veya az gelişmiş ülkelerdeki eğitim yetersizliği sonucu yaşam alışkanlıkları ve hijyen kurallarının uygulanmaması bu hastalıkların sık görülmesine neden olmaktadır (667). Gelişmiş ülkelerde, halk sağlığı ve ekonomik zenginliklerde gelişmeler görülmesine rağmen, bağırsak enfeksiyonu insidansı hala yüksek olup, mortalitede son yıllarda ciddi bir düşüş olmasına rağmen önemli bir klinik sorun olmayı sürdürmektedir. Fekal-oral yolla bulaşan bu enfeksiyonlar, kalabalık nüfusun olduğu, beslenmenin yetersiz ve dengesiz olduğu, hijyenik koşulların yetersiz olduğu ülkelerde çoğu insanın ölümüne neden olmaktadır (668).

İshal çoğunlukla gastrointestinal sistemin özellikle ince bağırsak ve kalın bağırsak bölümünün bakteri, virüs ve parazitler gibi etkenlerle karşılaşması sonucu gerçekleşir (3). Bunlar arasında yer alan *Salmonella spp.* , *Shigella spp.* , *C. jejuni*, *Shiga like toksin üreten E.coli*, *C. difficile*, *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Rotavirüs*, *Astrovirüs*, *Norovirüs*, *Adenovirüs* ve *C. parvum* gibi mikroorganizmalar gastrointestinal enfeksiyonlarda artan sıklıkla görülmektedir (669).

İshal, gelişmiş ülkelerde iş kaybının, gelişmekte olan ülkelerde ise ölümlerin en fazla nedenidir. İshal her yaşta görülebilir ancak mortalite çocuklarda ve yaşlılarda yüksektir. Büyük çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerde olmakla birlikte tüm dünyada 1,5 milyon çocuğun yaşamını kaybettiği bilinmektedir (670).

Bu çalışmaya farklı yaş gruplarındaki etken dağılımını da saptamak amacıyla tüm ishaller hastalar dahil edilmiştir. Hastaların %48'i pediatrik yaş grubuna ve %52'si erişkin yaş grubuna ait olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada 50 hastada diyare etkeni olan bir bakteriyel enteropatojen tespit edilmiştir. Çalışmamızda 1 hastada *Salmonella*, 1 hastada *Shigella*, 12 hastada *C. jejuni*, 9 hastada *C. difficile* toksin A, 12 hastada *C. difficile* toksin A+B, 8 hastada *Shiga like toksin üreten E. coli* saptanmıştır. Çalışmamızda %1 oranında diyare etkeni olarak *Salmonella* ve %1 oranında *Shigella* tespit edilmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalara baktığımızda Öngen ve ark. (671) İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarları'na 2003-2005 yılları arasında gelen dışkı kültürü (toplam 3444) örneğinin 88 (%2,6)'inden *Salmonella* cinsi bakteriler izole etmişlerdir. Özmert ve ark. (672) Hacettepe Üniversitesi'nde 2003-2009 yılları arasında toplam 14803 dışkı örneğinin 238 (%1,6)'inde *Shigella spp.* saptamışlardır. Çiftçi ve ark. (673) yaptıkları çalışmada; 2002-2009 yılları arasında toplanan 4183 gaita örneğinin %3,5'inde (146 örnek) *Shigella* türleri saptamışlardır. Levent ve ark. (674) Ekim 2007-Ağustos 2008 döneminde, RSHMB'na doğrulanmak ve tiplendirilmek için gönderilen 608 suşun 227 (%37,3)'sini *Shigella* olarak doğrulamışlardır. Bakıcı ve ark. (675) Ocak-Aralık 2000 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na başvuran 787'si çocuk ve 414'ü erişkin olmak üzere 1201 hastanın dışkı kültürleri ile yaptığı çalışmalarda, %2,74 *Salmonella* türü ve %0,91 *Shigella* türü tespit etmiştir. Keşli ve ark. (676) 2008 ve 2011 tarihleri arasında Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çocuk yaş grubuna ait 3883 dışkı örneği üzerindeki yaptığı çalışmada %8,4 oranında *Salmonella* türü ve %3,2 oranında *Shigella* türü tespit etmiştir. Gülmez ve ark. (677) Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Erişkin Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları'nda 2008-2011 tarihleri arasında 4162 dışkı örnek ile yaptığı çalışmada %3,4 oranında *Salmonella* türü ve %0,4 oranında *Shigella* türü tespit etmişlerdir. Ünlü ve ark. (678) Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümü'nde 2011-2012 tarihleri arasında 2244 dışkı örneği ile ilgili yaptığı çalışmada %1,33 oranında *Salmonella* türü ve %0,89 oranında *Shigella* türü belirlemişlerdir. Tural Kara ve

ark. (679) 2014 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran 2425 çocuk hastada yaptığı çalışmada %3,2 oranında *Shigella* ve %1,5 oranında *Salmonella* türü belirlemiştir. Blaser ve ark. (680) 1983 yılında ishalleri 8097 hastadan aldıkları dışkı örneklerinde %2,3 oranında *Salmonella* cinsi bakteri izole etmişlerdir. Aynı zamanda ABD'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda *Salmonella* izolasyonunun %1,3 ile %7,9 oranında değişen sıklıkta olduğu görülmüştür. Diyare olgularında *Salmonella spp.* sıklığı ile ilgili diğer çalışmalarda oranlar Belçika'da 7541 dışkı örneğinde %3,5; ABD'de 2164 dışkı örneğinde %1,0; Çekoslovakya'da ise 2048 dışkı örneğinde %3,1 olarak saptanmıştır (681).

BD Max Enterik Bakteri Paneli testi, *C. jejuni*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Shiga toksin 1 ve 2* genlerinin saptanması için bir multipleks gerçek zamanlı PCR analizidir. Çalışmamızda BD MAX Enterik Bakteri Paneli kullanılarak diyareli dışkı örneklerinde bakteriyel etkenler saptanmıştır.

Knalbe ve ark. (682) 2016 yılında yaptığı bir çalışmada toplanan 971 dışkı örneği BD MAX Enterik Bakteri Paneli ile değerlendirilmiştir. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel'in kullanımı, genel tespit oranını %5,26'dan %8,06'ya yükseltmiştir. BD MAX Enterik Bakteriyel Panel testi ve dışkı kültürü veya enzim immünoanalizinin pozitif yüzdeliği *Campylobacter* türleri için 0,97, *Salmonella* türleri için 0,75, *Shigella* türleri için 1,00 ve *Shiga* toksinleri için 0,88'dir. Ayrıca yanlış pozitifliği *Campylobacter spp.* için 0,98, *Salmonella spp.* için 0,99, *Shigella* için 0,99 ve *Shiga toksinleri* için 0,99 olarak gösterilmiştir. Bu çalışma, geleneksel tanısal prosedürlere kıyasla moleküler testlerin üstün tespit oranını vurgulamıştır.

Yaptığımız çalışmamıza 100 hasta dahil olmuştur. %50 oranında bakteriyel etkenler diyare nedeni olarak tespit edilirken, bunun %1'i *Salmonella spp.*, %1'i *Shigella*, %12'si *C. jejuni*, %27'si *C. difficile*, %9'u *Shiga like toksin üreten E. coli* olarak tespit edilmiştir.

Campylobacter cinsi bakteriler tüm dünyada besin kaynaklı gastroenteritlerin en sık nedenlerinden biridir. Ayrıca gelişmişlik farkı gözetmeksizin tüm dünyada, özellikle 6 ay 5 yaş arası çocuklarda, sıklıkla gıda kaynaklı ishallerle seyreden gastrointestinal sistem hastalıklarına yol açarlar. Kendi kendini sonlandıran, düşük mortalite oranına sahip, sekretuar tip ishallerden, kanlı

mukuslu dışkı çıkarımı ile karakterize dizanterik formda ishal oluşumuna kadar değişen klinik spektruma sahip olan *Campylobacter* enfeksiyonları, bazen konağın duyarlılığı, enfeksiyona sebep olan mikroorganizmanın türü, sayısı ile virulans faktörlerine bağlı olarak, Guillain-Barre sendromu, Hemolitik üremik sendrom ve reaktif artrit gibi ciddi komplikasyonlara da yol açabilmektedir (80).

Dünya genelinde *Campylobacter* enfeksiyonlarının büyük bir kısmından *C. jejuni* sorumludur (683). ABD’de yılda 1,3 milyon, Avrupa’da ise 190.000 *C. jejuni* enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir. İshalle seyreden hastalıkların genel olarak %5-14’ünden sorumlu olan *Campylobacter* enfeksiyonlarının insidansı, gıda ve kişi hijyeninin düzenlendiği Avrupa ülkelerinde %1-5 oranında seyrederken, düşük hijyen şartlarına sahip, malnütrisyonun görüldüğü az gelişmiş Afrika ülkelerinde %20’lerin üzerine çıkmaktadır (80).

Türkiye’de *Campylobacter* enfeksiyonlarının görülme sıklığı ile ilgili 1986-2002 yılları arasında yapılan çalışmalarda, *Campylobacter türlerinin* izolasyon sıklığının %1-15 arasında olduğu bildirilmiştir (684). Gültekin ve ark. (685) Sivas yöresinde 231 olguda %5 oranında *C. jejuni* saptadıklarını; Aktaş ve Tuncel (686) Erzurum’da 125 olguda %9, Akgün ve ark. (687) Eskişehir’de 500 olguda %1,4, Aşçı ve ark. (688) 1466 dışkı örneğinde %15, Özkan ve Günhan (689) İzmir’de 191 olguda %2, Öztürk ve ark. (690) İstanbul’da 1890 olguda %6,6, Yıldırım ve Fazlı (691) Kayseri’de 2127 dışkı örneğinde %3, Özen ve ark. (692) Denizli’de 412 olguda %1,5, Yılmaz ve ark. (693) Edirne’de 882 dışkı örneğinde %4 oranında *Campylobacter jejuni* bildirmişlerdir. Yukarıda, adı geçen çalışmalarda elde edilen sonuçların; örneklerin transport şartları, *C. jejuni* izolasyonda kullanılan besiyerleri, zaman ve laboratuvarlar arasındaki standardizasyon farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışılan yaş grupları, cinsiyet, ekonomik durum ve beslenme şartları gibi faktörler izolasyon oranlarını değiştirmektedir (694).

Son yıllarda dışkı örneklerinde *Campylobacter* DNA’sını saptayan ve tür düzeyinde identifikasyon yapabilen PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Real-Time PCR’in, dışkı örneklerinde *C. jejuni* tanımlanması için hızlı, hassas, tekrar edilebilir ve yüksek duyarlılığa sahip olduğu son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda

bildirilmektedir. Dışkı örneklerinde *C. jejuni/coli* varlığını saptamada tuf gen bölgesini araştıran BD MAX enterik bakteriyel panelinin rutin kültür yöntemleriyle karşılaştırılmasının değerlendirildiği bir çalışmada 1x1000-1x 10.000.000 CFU/ml arasında farklı konsantrasyonlarda bakteri süspansiyonları mikraerofil ortamda 42° C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 1 x 1000 CFU/ml konsantrasyonda geleneksel yöntemin duyarlılığı (kültürün) %43,8 saptanırken; Real-Time PCR yönteminin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır (695).

Biswas ve ark. (696) Real-Time PCR duyarlılığını %100 saptarken; kültür duyarlılığını %52,9 oranında saptamışlardır. Amar ve ark. (697) İngiltere’de, 4.627 gastroenteritli olguda *C. jejuni* dahil 9 farklı enteropatojeni kültür ve moleküler yöntemler ile tanımlamaya çalışmışlardır. Kültür yöntemi ile 228 *C. jejuni* tespit edebilirlerken (%9,4), moleküler yöntem ile 309 *C. jejuni* (%13) tanımlamışlardır (697). Dışkıda, *C. jejuni* varlığının saptanması geleneksel yöntemlerle 41-55 saat sürerken, Real-Time PCR yöntemiyle bu sürenin 2-3 saate kadar kısaldığı raporlanmıştır (698).

Ashman ve ark. (699) yaptıkları bir çalışmada, Real-Time BD MAX Enterik Bakteriyel Panel ile enterik bakteriyel patojenlerini araştırmışlar; %2,9 *Salmonella spp.*, %2,1 *C. jejuni/coli*, %1,2 *Shigella spp./Enteroinvaziv E. coli* ve %0,8 EHEC saptamışlardır.

Biswas ve ark. (696) 2014 yılında yaptıkları çalışmada, Real-Time PCR Enterik Bakteriyel Paneli ile *Campylobacter jejuni/coli* %5,3, *Shigella spp./Enteroinvaziv E. coli* %4,4, *Salmonella spp.* %1,3 oranında saptamışlardır.

Çalışmamızda ise, Real-Time BD MAX Enterik Bakteriyel Panel ile %12 *C. jejuni* pozitifliği saptanırken; %1 *Salmonella spp.*, %1 *Shigella* ve %9 EHEC pozitifliği saptanmıştır.

Çalışmamıza diyare tanılı 100 hasta dahil edilmiştir. *C. jejuni* %12 oranında diyare etkeni olarak tespit edilmiştir.

Fred G. ve ark.’nın (700) Kolombiya’da, akut ishal yakınması olan 5 yaş altı 129 çocukda ishal etkenlerini belirlemeye yönelik olarak yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada, *Campylobacter*’lerin %2,3 oranı ile, *Rotavirüs* (%48,1) ve *E. coli*

(%13,9)'den sonra ishalden en sık izole edilen 3. etken olduğu bildirilmiştir . Olesen B. ve ark. (701) Danimarka'da benzer yaş grubundaki çocuklarda yaptıkları ve Mart 2000-Aralık 2001 arasındaki 2 yıllık periyodu kapsayan, prospektif vaka kontrol çalışmasında; 424 ishalleri hastaya ait dışkı örneği ile 726 sağlıklı asemptomatik kişiden aldıkları dışkı örneklerini incelemişlerdir. Bu grup hastaların %54'ü ile kontrol grubu kişilerin %22'sinin dışkı örneklerinden etken patojen tespit edebildiklerini, *Campylobacter* insidansında gruplar için sırası ile %3,3 ve %0,4 olduğunu belirtmişlerdir. Klein E. J. ve ark. (702) ABD'de yaptıkları yine bir prospektif kohort çalışmasında; acil servise ishal şikâyeti ile gelen 1626 çocuk hastanın dışkı örneğini etken patojenlerin tespiti yönünden incelemişlerdir. Bu çalışma sonunda dışkı örneklerden en sık izole edilen patojenin *E. coli* (%4,1) olduğu, bunu %2,4 oranı ile *Salmonella* türlerinin, %1,5 oranı ile de *C. jejuni* izlediği gösterilmiştir. İtalya'da Scarlata F. ve ark.'nın (703) yaptığı ve çocuklarda gastroenterite yol açan etken mikroorganizmaların tespitine yönelik bir başka çalışmada ise 540 ishalleri çocuk hastaya ait dışkı örneği incelenmiş, örneklerden sırası ile *Salmonella* (%18,5) ve *Campylobacter* türlerinin (%6,5) en sık izole edilen ajanlar olduğu bildirilmiştir.

Türkiye'de farklı bölgelerde ve farklı yaş gruplarındaki ishalleri hastalarla yapılmış değişik çalışmalarda, *Campylobacter* cinsi bakterilerin dışkı örneklerinden izolasyon sıklığının %1-13 arasında olduğu bildirilmiştir (704).

Çukurova bölgesindeki akut ishalleri hastaların dışkı örneklerinde, muhtemel bakteriyel etiyolojik ajanları tespit amacı ile Köksal F. ve ark. (705) tarafından yapılan bir çalışmada, örneklerin %7,8'inde *Campylobacter* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Yine Adana bölgesinde, çocukluk çağı ishallerinde *C. jejuni* insidansını belirlemek amacı ile Kılıç B. ve ark. (706) tarafından yapılan ve 238 ishalleri çocuk ile 105 sağlıklı çocuktan alınan dışkı örneklerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise; ishalleri çocukların %2,94'ü ile sağlıklı çocukların %2,86'sının dışkı örneklerinden *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar *Campylobacter* yönünden pozitif bulunan ishalleri hastaların %71,43'ünün 5 yaşın altında olduğunu belirtmiş, asemptomatik gruplardaki izolasyon oranının semptomatik hastalar kadar yüksek oluşunu da tarıma dayalı ekonomiye sahip olan

bölgedeki insanların toprağa yakınlığı sebebi ile bölgedeki asemptomatik taşıyıcılık oranının yüksekliğine bağlamışlardır.

Çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde *C. jejuni*nin çocukluk yaş grubunda daha sık tespit edildiği görülmüştür. Çalışmamızda %8 oranında çocukluk yaş grubunda %4 oranında erişkin yaş grubunda *C. jejuni* tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalara göre *Campylobacter* varlığı saptanan hastalarda cinsiyet açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Feizabadi ve ark. (707) yaptıkları bir çalışmada, izole edilen 40 *Campylobacter* türünün 19'u erkek ve 21'i ise kadınlardan izole edilmiştir.

Çalışmamızda, erkeklerde sayı olarak kadınlardan daha fazla *C. jejuni* varlığı saptanmıştır. Ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0,6$).

Clostridium difficile, enfeksiyöz nozokomiyal ishallerde en sık tanımlanan ajandır ve antibiyotik kullanımının *C. difficile* ile ilişkili ishallerde en önemli risk faktörü olduğuna inanılmaktadır (708). Son zamanlarda *C. difficile* enfeksiyonlarının insidansı ve önemi artmaktadır. *CDE*, gelişmiş ülkelerde sağlık-bakım tesislerinde yaygındır ve büyük salgınlar şeklinde görülmektedir. Daha nadir olarak, kaynağı bilinmeyen toplum kaynaklı *CDE* 'ler de görülmektedir. Genellikle antibiyotik kullanımı sonrası barsak florası bozulan ve komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda görülür. Sadece toksinojenik suşlar toksin A ve/veya B üretimine bağlı olarak hastalığa neden olmaktadır. Salgınların gittikçe artan önemi, yüksek nüks oranı ve ciddi mortalitesi, 2003 yılında Kanada, ABD ve Avrupa'da yeni bir hipervirülen *C. difficile* suşunun saptanmasıyla bir kez daha ortaya çıkmıştır. Bu salgınların hipervirülen *C. difficile* 027 suşu ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Hollanda'da 2005-2008 yılları arasında %3'ten %13'e artan sıklıkta yeni bir hipervirülen suş tanımlanmıştır. Risk grupları, gebe kadınlar ve çocuklardan oluşmaktadır. Antimikrobiyal tedavi almanın da *C. difficile* enfeksiyonlarında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (709, 710).

Ergen ve ark.'nın (708) ülkemizde yaptıkları çalışmada, nozokomiyal ishallerin insidansı, risk faktörleri ve antibiyotikle ilişkili ishalde *C. difficile*nin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Nozokomiyal ishal sıklığı 5/1000 hasta yatışı

ve 0,6/1000 hastanede kalış günü olarak bulunmuştur. Bauer ve ark. (711) 2011 yılında yaptıkları ve 34 Avrupa ülkesini kapsayan çalışmada hastane kaynaklı *CDE* insidansı 10.000 hasta kabulü için 23 (0–276), 10.000 hastanede yatış günü için 4,1 (0,0–36,3) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada Türkiye’den 105 hasta test edilmiş, bunlardan sadece 3’ünde toksin A+B pozitifliği, 1’inde toksin A pozitifliği saptanarak toplam 4 hastada *CDE* saptanmıştır. Türkiye, Lüksemburg ile birlikte en düşük *CDE* oranlarının saptandığı ülke olmuştur ve Türkiye için hastane kaynaklı *CDE* insidansı, 10.000 hasta kabulü için 0 (0–4), 10.000 hastanede yatış günü için 0,0 (0,0–0,6) olarak saptanmıştır. Altındış ve ark.’nın (712) Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde 2007 yılında yaptığı çalışmada, antibiyotiğe bağlı ishal gelişen 91 hastada *C. difficile* izolasyon oranı %14,3 (13/91) olarak saptanmış ve tümünde EIA ile toksin A+B pozitifliği saptanmıştır. Büyükbaba Boral ve ark.’nın (713) 2002 yılında İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi’nde yaptığı çalışmada, 1998–2000 yılları arasındaki *CDE* ön tanılı 360 hastanın dışkı örneğinde toksin A araştırılmış ve 17 (%4,7) hastada toksin A pozitifliği saptanmıştır. Aynı çalışmada 2000–2002 yılları arasındaki *CDE* ön tanılı 400 hastanın dışkı örneğinde toksin A/B araştırılmış ve 48 (%12) hastada toksin A/B pozitifliği saptanmıştır. Deniz ve ark.’nın (714) 2011’de yaptıkları çalışmada, izole edilen 50 *C. difficile* kökenin, PCR ile toksin geni saptanan 36’sının hepsinde *tcdA* ve *tcdB* geni birlikte bulunmuş; hiçbirinde varyant gen veya binary toksin genine rastlanmamıştır.

St. Louis’de Tedesco ve ark. (715) 1974 yılında klindamisin ile tedavi edilen 200 olgunun 42’sinde (%21) diyare oluştuğunu, bunların 20’sinde (%10) ise endoskopik olarak PMK bulduklarını bildirmişlerdir. *C. difficile* kökenlerinin, antibiyotikle ilişkili ishale neden oldukları ilk kez 1977 yılında gösterilmiştir. Larson ve Price (716) 1977’de, Bartlett ve ark. (27) 1978’de, antibiyotiğe bağlı PMK’da etkenin, toksin yapan *C. difficile* olduğunu saptamışlardır. McFarland ve meslektaşları (29) tarafından yapılan dikkatli bir epidemiyolojik çalışma genel bir hastaneye başvuran hastaların %20’sinin hastanede yatışları sırasında ya kültürde pozitif olduğunu ya da organizmayı aldıklarını bulmuştur. Ayrıca enfekte olmuş hastaların sadece üçte biri ishal geliştirirken, geri kalan üçte ikisi asemptomatik taşıyıcılardır. Muhtemelen bu asemptomatik hastalar bir enfeksiyon rezervuarı olarak kabul edilirler (29).

Selvaraju ve ark.'nın (717) 2011 yılında Amerika'da 200 çocuk hasta örneğiyle yaptıkları çalışmada 48 (%24) örnekte *C. difficile* pozitifliği saptanmıştır. Bunların 45'i (%22,5) 2 yaş üzerinde çocuklardır. Luna ve ark.'nın (718) Teksas'ta 2011 yılında ortalama yaşları 4 olan 86 çocuk hastada yaptıkları çalışmada da *C. difficile* saptanmıştır. Duleba ve ark.'nın (719) 2013 yılında yaptığı çalışmada 3 ay-16 yaş arasında CDE tanılı 64 çocuk hasta alınmış ve *C. difficile* sıklığı en fazla 1-2 yaş arasında (%3,8) gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda pediatrik yaş grubunda *C. difficile* saptama yüzdemiz %27 olarak izlenmiştir. Ancak yaşa bağlı anlamlılık tespit edilememiştir.

Polonya'da yapılan bir çalışmada, 6 ay-8 yaş arası 18 HIV pozitif çocukta *C. difficile* ve toksinlerinin varlığı araştırılmıştır. Çocuklar daha önceden antimikrobiyal tedavi almışlardır. Gaita örnekleri toksin A ve B'yi saptayan antijen testi ve kültür ile değerlendirilmiştir. HIV ile enfekte 18 çocuğun 3'ünde (%17) toksin A ve B pozitifdir. *C. difficile* toksin pozitif gaita örneklerinin üçünden izole edilmiştir. *C. difficile* pozitif 3 çocukta ağır ishal gelişmiştir. Kalan 15 gaita örneği ise toksin açısından negatiftir ve bu örneklerden *C. difficile* izole edilmemiştir (720). Çalışmamızda 18 yaş altı 4 hastada *C. difficile* toksin A ve B pozitif bulunmuştur.

Boral ve ark.'nın (721) yaptıkları çalışmada, *C. difficile* enfeksiyonu ön tanısı ile 1998-2000 yılları arasında gönderilen 360 hastanın gaita örneğinde sadece toksin A'yı saptayan kit ile, 2000-2002 yılları arasında gönderilen 400 gaita örneğinde ise, toksin A ve B'yi saptayan kiti kullanarak toksin varlığını araştırmışlardır. İlk çalışma döneminde toksin A varlığı hastaların %4,7'sinde, ikinci çalışma döneminde ise toksin A-B varlığı hastaların %12'sinde saptanmıştır. Sonuç olarak *C. difficile* enfeksiyonlarının tanısında her iki toksini birlikte saptamaya yönelik kitlerin kullanılmasının uygun olacağını göstermişlerdir. Çalışmamızda ise toksin A-B varlığı, Boral ve ark.'nın (721) 2000-2002 yılları arasında kullandıkları gibi her iki toksini birlikte saptamaya yönelik kit kullanılarak araştırılmıştır.

Çalışmamızda *C. difficile* toksin A ve B genini saptamak için hızlı antijen tanıma yöntemiyle çalışan Certest *C. difficile* toksin A ve B kart testi kullanılmıştır. Çalışmamızda %15 oranında toksin A ve %12 toksin A+B bulunmuştur.

Clostridium difficile toksin A ve toksin A+B tespiti için Certest Biotect *C. difficile* toksin A ve A+B kart testi kullanılarak yapılan karşılaştırma çalışmalarında duyarlılığı yüksek görülmüş ve yanlış pozitiflik oranı çok az saptanmıştır (722, 723).

Bazı *E. coli* alt tipleri, potent sitotoksinler salgılayarak insanlarda hemorajik kolit ile seyreden bir tabloya sebep olmaktadır. Bu grup bakteriler *Enterohemorajik E. coli* (EHEC), *Verotoksijenik E. coli* (VTEC) veya *Shiga toksin üreten E. coli* (STEC) olarak da isimlendirilmektedir. EHEC kolitinin en ciddi komplikasyonu hemolitik üremik sendrom (HÜS) olup, akut böbrek yetmezliği, hemolitik anemi ve trombositopeniye de sebep olabilmektedir. HÜS olgularının ortalama %2-7'si ölmekte ve önemli bir kısmında da kalıcı böbrek hasarı oluşmaktadır. ABD'de ishal sonrası gelişen HÜS'ün yaklaşık %70'inden VTEC sorumlu iken, yaklaşık %80'ine *E. coli* O157:H7 neden olmaktadır. *E. coli* O157:H7'nin en önemli özelliği sorbitolu fermente etmemesi veya çok yavaş fermente etmesidir (724). EHEC suşları önemli bir bağırsak patojeni olarak son yıllarda önem kazanmaktadır. Bu gruptaki *E. coli* suşlarının bu zamana kadar en çok izole edileni ve en iyi bilineni O157 serogrubunda olan (O157:H7, O157: H) suşlarıdır. *E. coli* O157:H7'nin yaygınlığı ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları farklıdır. Marshall ve ark.'nın (725) yaptığı bir çalışmada incelenen 2164 dışkı numunesinin 80'inde enterik patojen saptamışlar ve enterik patojenlerin içerisinde %13 ile dördüncü sıklıkta *E. coli* O157: H7 olduğunu belirtmişlerdir. Harris ve ark. (726) 12 aylık sürede 2552 dışkı örneği incelemişler ve sadece iki *E. coli* O157:H7 tespit etmişlerdir. Gransden ve ark.'nın (727) yaptığı çalışmada ise 1425 hastada %1,9 oranı ile *E. coli* O157:H7'yi *Campylobacter*'den sonra ikinci en sık bakteriyel etken olarak belirtmişlerdir. Park ve ark.'nın (728) ABD'de 601 dışkı örneği üzerinde yaptıkları bir çalışmada örneklerin 34'ünde *E. coli* O157 serotipi tespit etmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 varlığının tespiti şöyledir; Zarakolu ve ark. (729) 1995-1997 tarihleri arasında 1200 ishali,

100 sağlıklı çocuğun dışkı örnekleri ile ilgili yaptığı çalışmada 5 tanesinde *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Aydoğan ve ark. (730) 1999-2000 yılları arasında 100 akut ishalli hasta dışkı örnekleri ile yaptıkları çalışmada 39 hastada sorbitol negatif bakteriler izole edilmiş ve bunların %3'ü *E.coli* O157 serotipi olarak tanımlanmıştır. Taş ve Ardıç (731) Ocak-Ağustos 1999 tarihleri arasında akut gastroenterit ön tanısı ile SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na başvuran erişkin ve SSK Ankara Çocuk Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'na başvuran çocuk hastaların da dahil olduğu 200 hastanın dışkı örnekleri ile yaptığı çalışmada %1 (2) oranında *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. Ekşi ve ark. (732) Gaziantep Perilikaya Sağlık Ocağı'na Haziran-Temmuz 2000 tarihlerinde akut ishal yakınması ile başvuran 91 hasta ve 60 kontrol grubundan olmak üzere toplam 151 tane, beş yaşın altındaki çocuk dışkı örneği ile yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 araştırılmış, fakat *E. coli* O157:H7 serotipi saptanmamıştır. Yeniiz ve ark. (733) 2003- 2005 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Haydar paşa Eğitim Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi ile Çocuk Hastalıkları Servisi'ne ishal şikayeti ile başvuran 429 akut ishalli hasta dışkı örneklerinde yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 varlığı açısından araştırılmış ve beş tanesinde *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada BD MAX Enterik Bakteriyel Paneli kullanılarak %9 *EHEC* tespit edilmiş, bunun %66,67'si kadın %33,33'ü erkek hastada izlenmiştir. Yaşa göre dağılıma baktığımızda ise %44,44'ü çocukluk yaş grubunda %55,56'sı erişkin yaş grubunda izlenmiştir. PCR bazlı çalışmaların daha sık yapılması ile *EHEC* tanı hızlarının ve oranlarının değişeceğini düşünmekteyiz.

İshal, bir senede yaklaşık 2.500.000 ölüme neden olmakta ve uzun evrelerde çocukluk döneminde büyümeyi ve gelişmeyi negatif olarak etkilemektedir. Bağırsak parazitlerinin görülme oranı, sosyoekonomik düzeyi, eğitim düzeyi ve yaşama standardı düşük olan uluslarda daha yüksektir. Gelişmekte olan ülkeler ile beraber ülkemizde protozoon ve helmint infeksiyonları önemli bir sağlık problemidir. Barsak parazitlerinin teşhisinde birçok tanı metodu bir arada kullanıldığı zaman, daha tatmin edici sonuçlara ulaşılmaktadır. Tanıdaki

performans, deneyimli laboratuvar elemanlarının doğru yöntemi kullanmasına bağlıdır (666).

Gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olan *E. histolytica*ın meydana getirdiği amebiyazın sıklığı belirsizdir. Türkiye’de çeşitli bölgelerde *E. histolytica* enfeksiyonlarının insidansının araştırılması amacıyla yapılan araştırmalar mevcuttur. Gelişmiş ülkelerde amebiyazis genellikle endemik bölgelerden gelen göçmenlerde ve seyahat edenlerde görülür. *E. histolytica*, seyahatçilerin ishali için ortak bir neden değildir ve endemik bölgelerde bir aydan az süre geçiren seyahatçilerde gastrointestinal enfeksiyon nadirdir. Almanların tropik bölgelerde yaptığı prospektif bir çalışmada sadece yüzde 0,3’ünde patojenik *E. histolytica* enfeksiyonu saptanmıştır (734). Kronik hastalar ve cinsel olarak aktif eşcinseller de artmış enfeksiyon riski altındadır (412). Araştırmalarda kullanılan metotların farklılığı, farklı sosyo-ekonomik düzeye sahip yerlerde yapılması veya hasta seçmedeki farklılıklardan dolayı *E. histolytica* enfeksiyonu yaygınlığı farklı oranlardadır (416, 423). Fulminan kolit (396), ameboma (430), kutanöz amebiyazis (735) ve rektovajinal fistüllerin (126) gelişimi bağırsak amebiyazis komplikasyonları olarak ortaya çıkabilir. Bangladeş’li çocuklarda mortalite oranı %29 olarak bulunmuştur (736). Direkt mikroskopik muayenenin sensitivitesi ve spesifitesi numune alımının uygunluğuna, numune sayısına ve muayeneyi yapan bireyin tecrübesine göre değişiklik göstermektedir. Gaitada lökosit, makrofaj ve diğer amiplerin mevcudiyeti yalancı pozitifliklere yol açabilmektedir. Haque ve ark.’nın (439) çalışmasında direkt mikroskobinin sensitivitesi %60, spesifitesi %79 olarak bildirilmiştir. Mikroskopi ile *E. histolytica*ın tanımlanmasında ölçüt, dışkı örneğinde eritrositleri fagosite etmiş amip trofozoitlerinin gözlenmesidir. Ayrıca *E. histolytica*ın etken olarak kanıtlandığı enfeksiyonlarda dahi eritrosit fagosite eden trofozoit varlığının sanıldığı kadar çok olmadığı görülmüştür (423). Tüzemen ve ark.’nın (443) çalışmasında, diyareyle gelen çocuk ve yetişkin hastaların gaita numuneleriyle tarama için randomize seçilen ilköğretim öğrencilerinden alınan gaita numunelerinden, tüm metotların uygulandığı 354 numunenin değerlendirmesine göre; numunelerin %23,7’sinde direkt mikroskopi, %17,2’sinde trikrom boyama, %8,7’sinde ELISA ve %2,5’inde PCR metoduyla pozitiflik belirlenmiştir. Araştırmacılar, amebiyazisli hastaların laboratuvar tanısında,

yöntemlerin mümkün olabildiğince kombine olarak kullanılması ve klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmesinin en uygun yaklaşım olacağı kanısına varmışlardır.

*E. histolytica*nın saptanmasında ve diğer entamoeba türlerinden ayrımında kullanılan PCR gibi nükleik asit amplifikasyon yöntemleri, mikroskopik incelemeden daha duyarlı ve özgül, antijen saptama yöntemiyle benzer duyarlılıkta yöntemlerdir. Ribozomal DNA (rDNA) epizomunun tam bir sekans haritası başarıyla tamamlanmıştır. Sehgal ve ark. (737) *E. histolytica* dairesel DNA'sının 24,5 kb olduğunu bulmuşlardır. Bu sekansın, farklı enterik amiplerin genotiplenmesi için oldukça faydalı olduğu kanıtlanmıştır.

Kurt ve ark. (738) İzmir'de farklı yerlerden aldıkları 2047 gaita numunesinde kültür ve direkt mikroskopiyle %2,9 oranında *E. histolytica* /*dispar* pozitifliği bulmuşlar, PCR ile %0,68 *E. histolytica* ve %1,5 oranında *E. dispar* saptamışlardır. Araştırmada, saptanan yüzdenin düşük olması yaşam standardının yüksek ve sanitasyon şartlarının iyi oluşuna bağlanmıştır. Araştırmacılar gecekonduarda yaşayan, sosyal güvencesi bulunmayan, dış bölgelerden göç ile gelmiş bireylerde *Entamoeba spp.* prevalansını yüksek, şişe su kullanan bireylerde kullanmayan bireylere göre daha düşük olduğunu saptamışlardır.

Güney Etiyopya kırsal bölgelerinde gerçekleştirilen bir araştırmada gastrointestinal semptomları olan hasta bireylerden alınan 92 gaita numunesinin direkt mikroskopik incelenmesiyle 3 numunede *E. histolytica*/*dispar* kisti/trofozoitine rastlanmış, PCR'la numunelerin 2 tanesinde *E. dispar*, 1 tanesindeyse *E. histolytica* bulunmuştur (739).

Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde Güneydoğu Asya ülkelerinden Doğu Timor ve Kamboçya'da 680 kişi ile yapılan bir çalışmada, dışkı örneklerinde PCR ile *E. histolytica* saptanmamıştır (740). Belçika'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, laboratuvarlarında değerlendirilen 631 dışkı örneğinin hiçbirinde PCR ile *E. histolytica* saptanmadığını ve gelişmiş ülkelerde *E. histolytica* enfeksiyonlarının endemik bölgelere seyahat öyküsüyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (741). Nikaraguay'ın ikinci büyük şehri Leon'da yapılan bir çalışmada diyare şikayeti olan 134 kişiden alınan dışkı örneğinde direkt mikroskopik inceleme ile %24 oranında *E. histolytica*/*dispar* enfeksiyonu tanısı

konulurken, PCR ile örneklerin %1,5'inde *E. histolytica*, %7,5'inde *E. dispar* saptanmıştır. PCR ile pozitif bulunan 12 örneğin sadece beşinde mikroskopi ile *E. histolytica/dispar* tanımlanabilmiştir (742).

Mısır'da gerçekleştirilen bir araştırmada diyare şikayeti olan 396 hastayla 202 sağlıklı bireyden alınan gaita numunelerinin direkt mikroskopik incelemesiyle diyaresi olan hastalara ait 43 numunede *E. histolytica/dispar* saptanmıştır. Araştırmada PCR yöntemiyle diyareli hastalara ait 8 numunede *E. dispar* rastlanmış, sağlıklı kontrollerden 1 bireye ait numunede *E. histolytica* saptanmıştır. Araştırmacılar gaita numunelerinde formol etil asetatla konsantrasyon metodu sonrası muayenesinin *E. histolytica /dispar* kisti/ trofozoiti saptanmasında anlamlı farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir (743).

Ülkemizde Ataş ve ark.'ları (744) 2006 ile 2018 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran gastrointestinal şikayetleri olan hastalarda Certest Combo Card test *Crypto+Giardia+Entamoeba* (CerTest Biotec S.L. İspanya) yöntemleriyle paraziter etkenleri araştırmışlardır. Bu araştırma sonucu *G. intestinalis* %6,9 (n=1,363) , *E. histolytica/dispar* %1,5 (n=289), *C. parvum* %0,3 (n=53) oranında tespit edilmiştir (744).

Çalışmamızda ishallerde hastalarda *E. histolytica* pozitifliği saptanmamıştır. Çalışmamızda hızlı antijen tanıma yöntemine dayanan immünokromatografik bir test olan Certest Biotect parazit kard testi kullanılmıştır. Bu sonuç Elazığ ilinin sanitasyon koşullarının iyi olduğunu ve çalışılan hasta popülasyonunun sosyo-ekonomik-kültürel düzeyinin gelişmiş olabileceğini düşündürmüştür.

*Giardia intestinalis*in neden olduğu giyardiya dünya çapında en yaygın görülen protozoon enfeksiyonlarından birisidir (336). *G. intestinalis* sanitasyon şartlarının bozuk olduğu yerlerde özellikle çocuklarda sık görülen bir protozoonudur. Gelişmekte olan ülkelerde %30'lara varan prevalans oranları bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan geniş çaplı bir çalışmada 85707 dışkı değerlendirilmiş ve parazit saptanan olgular içerisinde en sık görülen parazitin, %40 oranında *G. intestinalis* olduğu belirtilmiştir (745).

Giyardiyazis özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklarda salgınlar yapabilmektedir ve ciddi sosyoekonomik kayıplara yol açmaktadır (336). Bu kayıpların önlenebilmesi için ilk adımın doğru ve hızlı tanı koyarak hasta veya taşıyıcı kişilerin saptanması ve uygun şekilde tedavi edilmesi olduğu vurgulanmaktadır (337).

Literatürde giyardiyazis görülme sıklığının cinsiyet ve yaşla ilişkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada giyardiyazis en fazla 0-12 yaş grubunda saptanmıştır (746). Ülkemizde yapılan geniş kapsamlı diğer bir çalışmada giyardiyazis saptanma oranları inceleme yapılan yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; karışık yaş gruplarını içeren araştırmalarda %12,2, erişkin yaş gruplarında %11,2, ocuk yaş gruplarında ise %13,8 olarak saptandığı ifade edilmiştir (747). Yapılan bazı çalışmalarda *G. intestinalis* saptanma açısından cinsiyet ve yaşa göre anlamlı bir fark görülmediği ifade edilmiştir (748, 749).

Yaptığımız alışmamızda etkenin hepsi ocuk yaş grubunda tespit edilmiş olup erişkin yaş grubunda *G. intestinalis* tespit edilememiştir.

Giardia intestinalis, *C. parvum*, *E. histolytica* gibi bağırsak protozoonlarının tanısında genellikle gaita örneklerinin mikroskopik incelemesi sonucunda tanı konulmaktadır. Ancak mikroskopik incelemelerin; deneyimli personele ihtiyaç duyması, tek gaita incelemelerinin düşük duyarlılığa sahip olması ve protozoonların gaitada gün aşırı olarak bulunması veya az sayıda bulunması aynı hastanın farklı günlerde alınmış gaita örneklerinin incelenmesi gerekliliği, patojen olan *E. histolytica* ile patojen olmayan *E. dispar* arasında morfolojik bir fark olmadığından mikroskopik olarak ayırt edilememesi, uzun zaman alması gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır (750). Moleküler teknikler, özellikle PCR'ye dayalı yöntemler, tek gaita incelemesinde mikroskobiye ve antijen testlerine göre aynı oranda veya daha yüksek oranda duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir. Ayrıca gerçek zamanlı PCR kısa sürede güvenilir sonuçlar verebilmekte, geniş epidemiyolojik çalışmalarda zaman ve maliyet açısından diğer yöntemlerden daha verimli olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir. Moleküler yöntemler ile *G. intestinalis* genotipleri ayırt edilerek enfeksiyon kaynaklarının belirlenmesi sağlanabilmektedir (751-753). Hollanda'da yapılan bir çalışmada gerçek zamanlı

PCR ile yapılan analizde 152 örneğin 44'ü *G. intestinalis* açısından pozitif bulunurken, mikroskopik incelemeler ile 29 örnek pozitif bulunmuştur (752).

Yaptığımız çalışmada direkt mikroskopik bakı ile *G. intestinalis* tanımlanan ve paraziter diyare etkenleri arasından %50 diyare etkeni *G. intestinalis* olarak tespit edilmiştir.

Kanserli olgu sayılarında son yıllarda gözlenen artış, immünsupresyon, immünsüpresif ilaçların artan kullanımı, nüfusun yaşlanması ve malnütrüsyon sonucunda paraziter enfeksiyonlara duyarlılık artmıştır. Kriptosporodiyazis de dünyanın birçok bölgesinde giderek yaygın hale gelen, hem immün yetmezliği bulunanlarda hem de immün sistemi sağlam bireylerde sağlık problemi oluşturan bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle nozokomiyal ishallerde üçüncü en sık patojen (%7,2) olarak yer alması *Cryptosporidium*'un önemini daha da arttırmaktadır (754).

İshalli hastalarla yapılan çalışmalarda Avrupa ve Kuzey Amerika'da %1-4, Afrika, Asya, Avustralya, Güney ve Orta Amerika'da %3-20 oranlarında *Cryptosporidium* tespit edilmiştir. Ülkemizde farklı hasta gruplarında yapılan çalışmalarda ise *Cryptosporidium* enfeksiyonu görülme sıklığının %0-35,5 olduğu bildirilmiştir (755).

Gelişmekte olan ülkelerdeki ishallerin de %12'sinden, gelişmiş ülkelerdeki ishallerin ise %7'sinden, *Cryptosporidium* türlerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (756).

Hastalığın bulaşmasının genel olarak fekal-oral yol ile olduğu, direkt veya indirekt temas, kontamine olmuş kaynak veya içme suları, yine kontamine olmuş gıdalar ve ihtimalle havanın bulaşmaya neden olabileceği bildirilmiş, kurumaya oldukça duyarlı olan parazit açısından suların özel öneme sahip olduğuna dikkat çekilmiştir (757).

Enfeksiyonun görülmesinde cinsiyetin etkisinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde cinsiyet farkı ile enfeksiyon görülme arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (758, 759).

Bizim çalışmamızda diğer çalışmalara göre az sayıda dışkı örneği incelenmiştir ve bu örneklerin %55,17'si kadın, %44,83'ü erkek cinsiyeti olarak tespit edilmiştir. Diğer çalışmalarla benzer olarak yaptığımız çalışmada da cinsiyetler arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Gelişmiş ülkelerin birçoğunda kriptosporodiyazis olguları 1-4 yaşlar arasında daha fazla görülmektedir (760). Bu yaş grubunda hijyen eksikliğine bağlı bulaşın daha kolay olması ve bağışıklık sisteminin yeterince gelişmemesi bu yaştaki prevalansı etkilemektedir. Bu nedenle *C. parvum*un çocukluk dönemindeki ishalleri hastalıklarda önemli bir etiyolojik etken olduğu ve ishalleri dışkıların rutin parazitolojik değerlendirilmesinin gerektiği düşünülmüştür (758).

Çocukluk yaş grubunda kriptosporodiyazisin prevalansının yüksek olduğunu belirten çalışmaların yanı sıra, enfeksiyonun 35 yaş ve üzeri yetişkinlerde daha yüksek oranda görüldüğünü bildiren çalışmalara da rastlanmaktadır. Bu durumun, olguların kriptosporodiyazis enfeksiyonu açısından çevresel faktörlerle daha fazla karşılaşması veya riskli davranışlar göstermesi nedeniyle olabileceği düşünülmüştür (761). Fathy ve ark. (762) Mısır'da 250 çocuğu kapsayan çalışmalarında 56 çocukta %22,4 oranında PCR ile pozitiflik bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada *C. parvum* çocukluk yaş grubunda tespit edilirken, erişkin yaş grubunda tespit edilmemiştir.

AİDS olgularında serum sitokin düzeyleri ile semptomlar arasında bir korelasyon bulunmazken, prostoglandin inhibitörlerinin kriptosporodiyazis semptomlarını ortadan kaldırmada etkili olmadığı bildirilmiştir (763). Robinson ve ark. (265, 764) *C. parvum* ile enfekte gönüllülerde diyarenin şiddeti ve durumu ile nöropeptid P maddesi arasındaki korelasyonu göstermiştir. *C. parvum*un patolojik değişiklikler oluşturabilme yeteneği ile ilgili hücre kültüründe yapılan araştırmalarda, parazitin nükleer kondansasyona ve DNA fragmentasyonu ile karakterize apoptozise neden olduğu ortaya konmuş ve enfeksiyonun birinci gününde gözlenen bu apoptik değişikliklerin bir proteaz olan caspase aracılığı ile geliştiği tespit edilmiştir (765). ABD'de, AIDS'li hastalar ve süt hayvancılığı çiftçileri gibi bazı gruplarda *Cryptosporidium* enfeksiyonu prevalansı daha yüksektir (muhtemelen *C. parvum* sığırlarda ishale neden olduğu için) (766).

İngiltere'de McLauchlin ve ark.'nın (767) yaptıkları çalışmada *Cryptosporidium* ookistleri saptanan dışkı örneklerinde PCR ve mikroskopi yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada mikroskopi ile %96,8'inde saptandığı bildirilmiştir.

Amar ve ark.'nın (768) İngiltere'de bağırsak patojenlerinin saptanmasında konvansiyonel mikroskobik yöntemlerle PCR'ın karşılaştırıldığı çalışmasında *Cryptosporidium*'un saptanmasında PCR'ın 22 kat daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Tanıda rutin olarak kullanılan mikroskobik değerlendirmenin düşük duyarlılığa sahip olduğu, parazitin görülme sıklığının belirlenmesinde yetersiz olduğu, bu yöntemle bazı olguların atlanabildiği düşünülmüştür. Bu nedenle İngiltere'de *Cryptosporidium* ve *Giardia* gibi protozoon parazitlerin düşük risk grubu organizmalar arasında yer aldığı, yüksek duyarlılığa sahip PCR yönteminin enfeksiyonun kaynağı ve bulaş yolunun anlaşılmasında yararlı olacağı bildirilmiştir. Hızlı, güvenli ve hassas bir metot olmasına rağmen bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Cansız mikroorganizmaların belirlenmesi ve laboratuvar kontaminasyonu vb. sebeplerle yalancı pozitiflik verebilmektedir (757). Bu metodun rutinde kullanılabilmesi için bu problemlerin ortadan kaldırılması ve metodun standardizasyonu için gereklidir (757). Az sayıdaki numunenin muayenesinde epeyce pahalı bir metottur. Gaita numunesi içinde oldukça az sayıda ookist oluşu ve ookistlerin gaitanın her yerine homojen biçimde dağılmamış oluşu sebebiyle PCR metodunun mikroskopik değerlendirmesinden daha az sayıda pozitifliğe yol açabileceği bildirilmektedir. Bazı ookistler DNA ekstraksiyonundan önce zarar görmüş olabileceğinden PCR sonucuyla mikroskobik değerlendirmede farklılıklar olabilmektedir (769).

PCR yöntemi ile mikroskopi yöntemini karşılaştırdığımızda PCR'ın mikroskobik incelemeden daha fazla zamana gereksinim duyduğu ve başlangıçta daha fazla maliyete sahip olduğu görülmektedir. Az sayıda örneğin incelenmesinde oldukça pahalı bir yöntem olmasına karşın PCR'ın çok sayıdaki örneğe aynı anda uygulanabilir olmasıyla maliyeti düşürebilmektedir. Asit-fast boya yönteminin uygulanması PCR yöntemine göre daha kısa sürmektedir. Ancak preparatın değerlendirilmesi için deneyimli uzmana ihtiyaç varken, PCR'ın değerlendirilmesinde spesifik bandın olup olmamasına bakılarak kolayca karar

verilebilmektedir. PCR'ın diğerk bir avantajı da yüksek duyarlılık ve seçiciliğesahip olması çok sayıda örneğes aynı anda uygulanabilmesi ve tür ayırımı yapılabilmesidir. Bu nedenlerle epidemiyolojik araştırmalarda özellikle salgının kaynağının araştırılmasında gelecek vadeden bir yöntem olma özelliğindedir (770).

Ülkemizde *Cryptosporidium*'un tanısına yönelik çalışmalar gözden geçirildiğinde, bu alanda yapılan çalışmaların çoğunlukla boya yöntemlerine dayandığı, bu nedenle enfeksiyonun bulaş yolları, risk faktörlerine ait bilgilerin yetersiz olduğu görölmektedir. İshalli dışkı örneklerinin Kinyoun asit-fast boyama yöntemi ile değerlendirilmesi sonucunda, Çeliksöz ve ark. (771) %19,8, Fındık ve ark. (772) %1,6, Özçelik ve ark. (773) %11,8, İnceboz ve ark. (774) %0,4, Atambay ve ark. (775) %1,6 oranında *Cryptosporidium* ookistleri saptandığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda modifiye Kinyoun asit-fast boyama yöntemi kullanılarak *C. parvum* tespit edilmiştir. Ayrıca Certest Combo Card test *Crypto+Giardia+Entamoeba* kullanılarak hem hızlı hem de yüksek duyarlılık ile sonuç alınmıştır.

Gastroenteritler tüm dünyada 5 yaş altındaki çocuklarda, gelişmekte olan ölkelerde mortalitenin, gelişmiş ölkelerde ise morbiditenin en önemli nedenidir. Dünyada yılda yaklaşık bir buçuk milyon çocuk gastroenteritlerin neden olduğu ağır ishaller nedeniyle kaybedilmektedir (776). Çocuklardaki solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık görölen hastalık grubunu oluşturur. Viral gastroenteritler kolay bulaş, kontamine ortamda uzun süre kalabilme ciddi klinik semptomlara neden olabilme özelliğesi nedeniyle çocuklarda en önemli halk sağlığı sorunu durumundadır. *Rotavirüsler* tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık görölen viral enfeksiyon etkenidir. *Rotavirüs* enfeksiyonundan sonra sırayla en sık görölen viral enfeksiyon etkenleri, *Norovirüs*, *Adenovirüs*, *Astrovirüs* 'tür. Gelişmekte olan ölkelerde viral gastroenteritler her yıl bir milyar olgu ve 4-6 milyon ölüme yol açmaktadır (777). Dünya genelinde beş yaş altı çocuklarda 1,8 milyonun üzerinde ölümün gastroenteritlerden dolayı meydana geldiğesi tespit edilmiştir (778).

Norovirüs 'ler 1968 yılında gastroenterit etkeni olarak keşfedilmesine rağmen, özellikle son yıllarda geniş toplulukları etkileyen salgınlar yapması

nedeniyle dikkat çekmiştir. Patojenitesinin yüksek olması, fekal oral yol dışında kontamine su ve gıdalarla ve kusmuk aerosolü ile bulaşabilmesi ve uzun süre ortamda canlılığını sürdürebilmesi nedeniyle özellikle toplu ortamda yaşayan temas halindeki insanlarda ishallere neden olmaktadır. Tüm dünyada tanı tekniklerinin gelişmesine paralel olarak *Norovirüs*'ün görülme sıklığına ve *Norovirüs* tiplendirmesine yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Ülkemizde *Norovirüs* ile ilgili yeterli prevalans çalışması mevcut değildir. 2004 yılında yapılan bir tez çalışmasında hastane kaynaklı ishallerde çocuklarda *Norovirüs* sıklığı %6,9 olarak saptanmıştır (10). Yine 2007 yılında Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada hastanede yatan 88 çocuğun %17'sinde *Norovirüs* saptanmıştır (779). 2008 yılında Orta Anadolu'da yaşanan salgında ise etken *Norovirüs* saptanmıştır. Bu salgın ülkemizde tespit edilen ilk *Norovirüs* salgını olarak kayıtlara geçmiştir (9). Diğer sık görülen viral ishal etmenleriyle birlikte *Norovirüs* ün toplum kaynaklı sıklığını araştırdığımız çalışmamızda *Norovirüs* insidansı %8,7 olarak saptanmıştır (9).

Viral gastroenteritlerden *Norovirüs* her yaş grubunda görülmesine rağmen özellikle 5 yaş altı çocuklarda daha sık görülmektedir. *Rotavirüs*'ler ise tüm dünyada 5 yaş altındaki çocuklarda ishale bağlı ölümlerin en sık nedeni durumundadır. Hastaların ortalama yaşlarına bakıldığında Nakanishi ve ark. (780) ishalleri çocukların ortalama yaşını 46 ay olarak saptamışlar, viral etkenlere göre yaş dağılımına baktıklarında ise *Rotavirüs* 5 yaş altında daha sık görülürken *Norovirüs* 6-9 yaş aralığında sık görülmüştür. Gelişmekte olan ülkelerden biri olan Endonezya'da 2001 yılında yapılan prevalans çalışmasında her üç ishal etmeninin en sık görüldüğü yaş 0-1 yaş arasında saptanmıştır (781). Yine Tayvan'da 2005 yılında *Rotavirüs* ve *Norovirüs* klinik karşılaştırmasının yapıldığı çalışmada her iki viral ajanın en fazla görüldüğü yaş 3 yaşın altı olarak saptanmıştır (782).

Gelişmekte olan ülkelerdeki gastroenterit vakalarında *Norovirüs* prevalansını belirlemeye yönelik bir çalışmada oran %17 olarak bildirilmiştir (783). Bölgesel düzeyde yapılan incelemelere bakıldığında Orta Asya ve Kuzey Afrika bölgesinde yapılan çalışmalarda prevalans %0,82 ile %36,84 oranında değişmekle birlikte ortalama %15,3 olarak bildirilmiştir. Bu oranlar ülkemizdeki çalışmalarla benzer oranlara sahiptir (784). Latin Amerika, Japonya gibi daha uzak bölgelerden bildirilen ortalama prevalans oranları ise sırasıyla %15 ve %20,6'dır (785, 786).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise bu oran %8-%25,8 aralığında değişmektedir (779). Bununla beraber ülkemizde *Norovirüs* enfeksiyonlarına yönelik çalışmalar sınırlı sayıda olup bu çalışmaların bir kısmında da moleküler bir yöntemin kullanılmadığı görülmektedir (787).

Yaptığımız çalışmamızda *Norovirüs* tespiti için hızlı antijen saptama prensibi ile çalışan immünokromatografik yöntemlerden Certest Kart testi kullanılmıştır.

Yaptığımız çalışmamızda viral diyare etkenleri arasında %1,7 oranında *Norovirüs* saptanmıştır. Tespit edilen hastaların belirtileri, yaşı, örneklerin diğer etkenler açısından incelendikten sonra çalışmaya dâhil edilmesi, kullanılan tanı yöntemi gibi bu oranları etkileyen çok sayıda faktör olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. *Norovirüs* sıklığı ile ilgili üzerinde durulması gereken bir diğer durum seçilen hastaların yaş gruplarıdır. Rockx ve ark. (788) tarafından bildirilmiş prospektif kohort bir çalışmada *Norovirüs*'ün her yaş grubunda sıklıkla tespit edilebildiği ancak *Norovirüs* ile ilişkili gastroenteritlerin en sık çocuk ve yaşlı hastalarda görüldüğü bildirilmiştir. Buna karşın *Norovirüs*'ün global prevalansına yönelik çalışmada ise yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (789). Bu durum ilk bakışta çelişkili olarak görülse de aslında yapılan çalışmalara dâhil edilen çocukluk yaş grubundaki hastaların sayıca fazla olması veya çalışmaların sadece çocukluk yaş grubu hastalarla sınırlı olmasından kaynaklanmaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da bu durum dikkat çekmekte olup, çalışmaların genellikle çocukluk yaş grubunda yapıldığı tespit edilmiştir (495, 516, 790). Muhtemelen çocukluk çağında görülen akut gastroenterit tablolarında hastaneye yatış ve mortalitenin daha yüksek olması bu yaş grubunda etiyolojiyi aydınlatmaya yönelik talebin artışına, dolayısıyla çalışılacak örnek sayısına daha kolay ulaşılmasına zemin hazırlamaktadır.

Açıklanan nedenlerle bu çalışmada, ülkemizde ve dünyada erişkinlerde *Norovirüs* pozitifliğine dair veriye katkıda bulunmak amacıyla herhangi bir seçime uğramadan tüm yaş gruplarından hasta örnekleri incelemeye alınmıştır. Değerlendirilen 100 hastanın 52'si (%52) erişkin, 48'i (%48) çocukluk yaş grubundadır. *Norovirüs* açısından pozitif ve negatif bulunan hastaların yaşlarının

normal dağılım gösterdikleri görülmüş olup, *Norovirüs* pozitif saptanma oranları erişkin yaş grubunda %100, çocukluk yaş grubunda %0 olarak hesaplanmıştır. Literatürle uyumlu olarak ne beş yaş altı ve üstü hasta grupları ($p=0,63$), ne de çocukluk yaş grubu ve erişkin hastalar arasında literatür taramasında *Norovirüs* enfeksiyonlarının sıklığının cinsiyetler arasındaki farkına yönelik spesifik bir bulguya rastlanmamıştır. Bununla birlikte Almanya'dan bildirilen bir çalışmada *Norovirüs* enfeksiyonlarının kadınlarda daha sık görüldüğü bildirilmişse de (791) hem dünyada (792) hem de ülkemizde cinsiyetler arasındaki farkın değerlendirildiği çalışmalarda (793, 794) genellikle anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çalışmamızda değerlendirilen 100 hastanın 51'i erkek, 49'u kadın olup, *Norovirüs* pozitif saptanan 6 hastanın 2'si erkek 4'ü kadındı.

Literatürde yine antijen tespiti prensibi ile çalışan bir diğer yöntem olan immünokromatografik yöntemle yönelik birçok duyarlılık ve özgüllük çalışması yapılmıştır. Battaglioli ve ark.'nın (795) yaptığı çalışmada da IKG yöntemi için yakın duyarlılık (%61,4) ve özgüllük (%100) oranları bildirilmiş, Bruggink ve ark.'nın (796) yaptığı çalışmada ise %87 gibi kısmen daha yüksek duyarlılık ve diğer çalışmalara yakın olarak %97 özgüllük bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda immünokromatografik yöntemle prevalans belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmış, ancak duyarlılık ve özgüllük hesaplamasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Norovirüs tanısında RT-PCR, daha hızlı ve kolay uygulanabilir olan antijen tespiti prensibine dayalı enzim immünoassay ve immünokromatografik yöntemler gibi tanı yöntemleri mevcuttur. Ancak her iki tanı yönteminin de başlıca sorunu özellikle sporadik vakalardaki duyarlılık sorunudur (797). Literatürde, *Norovirüs* salgınlarında ve bizim yaptığımız çalışmada da kullanılan immünokromatografik yöntem kitlerinden CERTEST Biotec Combo kart test ile yapılmış çok sayıda duyarlılık ve özgüllük çalışması bulunmaktadır. Literatürde yine antijen tespiti prensibi ile çalışan bir diğer yöntem olan immünokromatografik yöntemle yönelik birçok duyarlılık ve özgüllük çalışması yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda referans yöntem olarak RT-PCR kullanılmış olup 771 örnekle yapılan çok merkezli bir çalışmada yöntemin duyarlılığı %72,8, özgüllüğü ise %99,5 olarak bildirilmiştir (798).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda immünokromatografik yöntemle prevalans belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmış, ancak duyarlılık ve özgüllük hesaplamasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Norovirüs* gastroenteritleri gelişmişlik düzeyi farketmeksizin tüm ülkelerde ve her yaştaki bireyde çoğunlukla epidemik daha nadiren de sporadik olarak rastlanabilmektedir. Çalışmalarda *Norovirüs* pozitifliği ortalama %12 oranında bulunmuştur. EIA ve IKG yöntemleriyle *Norovirüs* varlığı açısından pozitif olarak tespit edilen hastaların tamamında belirtilerin iyileşme süresi 4 günden kısadır. EIA ve IKG yöntemlerinden herhangi biri ile tespit edilemeyen ancak RT-PCR ile pozitif sonuç alınan altı hastadan sadece birinin belirtilerinin 2-3 gün içerisinde sonlandığı, geriye kalan beş hastanın belirtilerinin gerileme sürelerinin 1 hafta-5 ay arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu durumun daha önce de bildirildiği gibi viral yükün azalması durumunda antijen tespitine dayalı yöntemlerin duyarlılıklarının düşmesi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (799-801). Her ne kadar bu hastalardan alınan bilgilerden belirtilerin başlama ve örnek verme arasında geçen süreye dair kesin bilgiler öğrenilememişse de (iki hastanın semptomların başlangıcından en az 1 hafta sonra başvuruda bulundukları belirlenmiştir) neredeyse tüm hastalarda uzun süren enfeksiyon belirtilerinin olması dikkat çekicidir. Genellikle kısa süreli ve hafif seyreden *Norovirüs* enfeksiyonlarına ait belirtiler altta yatan faktörlerin varlığında uzun süreli olabilmektedir. Kolay uygulanabilir ve ucuz yöntemler olan EIA ve IKG yöntemlerinin bu hastalarda tanı koymada yeterli olmayışı moleküler yöntemlere olan ihtiyacı bir kez daha göstermektedir. Ancak belirtildiği gibi azalan viral yükün bu duruma neden olabileceği gözönünde bulundurularak semptomların başlangıcından kısa süre sonra örneklerin incelemeye gönderilmesi bu olasılığı azaltmada yardımcı olacaktır. Ayrıca yine belirtileri kısa süre içinde sonlanan bir hastada da antijen tespiti prensibine dayalı yöntemler tanı koymakta yetersiz kalmıştır. Bu sebeple belirtileri kısa süren hastalarda da bu yöntemlerin yeterliliği konusunda kuşku oluşmuştur.

Rotavirüs'ler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık görülen viral enfeksiyon etkenidir. *Rotavirüs*'den sonra sırasıyla, en sık olarak *Norovirüs*, *Adenovirüs*, *Astrovirüs* viral enfeksiyon etkeni olarak rastlanmaktadır. Ülkemizde

etiyojik ajanların saptanmasına yönelik çalışmalarda *Rotavirüs*'ten sonra en sık *Adenovirüs* gastroenteriti saptanmaktadır (802, 803).

En sık görülen viral gastroenterit etkenleri olan *Rotavirüs*, *Adenovirüs*, *Norovirüs*'ün görülme sıklığına bakıldığında Tayvan'da Chen ve ark.'nın (804) yaptığı bir çalışmada viral ajanların görülme sıklığı araştırılmış ve *Rotavirüs* %35,4 ile en sık görülen viral ajan iken, *Norovirüs* %29,3 ile ikinci sıklıkla görülmüştür. Yine Almanya'da Wigerling ve ark.'nın (805) 2010 yılında 650 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada *Rotavirüs* %43,8, *Norovirüs* %31,4 saptanırken, *Adenovirüs* %9,7 oranında saptanmıştır. Japonya'da Nakanishive ark.'nın (806) RT-PCR ile viral enterik ajanları araştırdıkları çalışmasında *Rotavirüs* %16,3, *Norovirüs* %13,2, *Adenovirüs* %4,8, *Astrovirüs* %4,6 olarak tespit edilmiştir. Güney Kore'de Hulave ark.'nın (807) 5 yaş altındaki çocuklardan on binin üzerinde dışkı örneğinin toplandığı çalışmasında *Rotavirüs* %66,7 ile en sık, *Norovirüs* %12,6 ile ikinci sıklıkla saptanırken, *Astrovirüs* %11,9, *Adenovirüs* %2,6 olarak saptanmıştır. Tunus'ta Sdiri ve ark.'nın (808) çalışmasında ise 2003-2005 yıllarını kapsayan dönemde 12 yaş altı çocuklarda enterik virüslerin sıklığına bakıldığında *Rotavirüs* %22,5, *Norovirüs* %17,4 oranında saptanırken, *Astrovirüs* %4,1, *Adenovirüs* %2,7 olarak saptanmıştır. Çin'de Zhang ve ark.'nın (809) çalışmasında hastaneye yatan çocuklardaki viral ajanların görülme sıklığına bakıldığında ise %68,7'sinde *Rotavirüs*, %20,4'ünde *Norovirüs* ve %5'inde *Adenovirüs* saptanmıştır.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise Akıncı ve ark.'nın (810) *Rotavirüs* ve *Adenovirüs*'ün sıklığını araştırdığı çalışmasında *Rotavirüs* insidansı %13,7, *Adenovirüs* %14,9 saptanırken, %8,2'sinde *Rotavirüs-Adenovirüs* birlikte saptanmıştır. Balcı ve ark.'nın (802) Denizli'de yaptığı çalışmada *Rotavirüs* %26,5 saptanırken, *Adenovirüs* %4,3 oranında saptanmıştır. Van'da 2009 yılında Gültepe ve ark.'nın (803) yaptığı bir çalışmada *Rotavirüs* %41, *Adenovirüs* %17 oranında saptanırken, hem *Rotavirüs* hem *Adenovirüs* enfeksiyonu birlikteliğinin %13 oranında olduğu saptanmıştır. Yaptığımız çalışmada ise *Rotavirüs* %16, *Adenovirüs* %8, *Norovirüs* %6 ve *Astrovirüs* %5 oranında saptanırken; 5 hastada (%5) koinfeksiyonu saptanmıştır. *Rotavirüs*, *Adenovirüs* ve *Norovirüs*'ün karşılaştırıldığı çalışmalarda *Rotavirüs*'ten sonra en sık saptanan viral etmen *Norovirüs* iken çalışmamızda *Rotavirüs*'ten sonra en sık *Adenovirüs* etken olarak saptanmıştır.

Arwa ve ark.'nın (811) yaptığı 1-19 yaş arasındaki 188 hastadan oluşan bir çalışmada immünokromatografik yöntemler ve ELISA ile karşılaştırılarak *Rotavirüs*, *Adenovirüs*, *Astrovirüs*'ün sıklığını hesapladıkları çalışmada immünokromatografik yöntemlerle inceleme yapılmıştır. *Rotavirüs*, *Adenovirüs* ve *Astrovirüs* antijenleri immünokromatografik inceleme ile tanımlanmış ve sonuçlar 27 örnekte pozitif olarak tespit edilmiştir. ELISA testi kullanılarak çalışılan 188 numuneden, 35 örnekte *Rotavirüs* (%18,62) ve 6 örnekte (%3,19) *Adenovirüs* pozitif olarak saptanmıştır. Bu çalışma ile beraber *Rotavirüs* ve *Adenovirüs*'ün özellikle 5 yaşından küçük çocuklarda ishalde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Viral patojenler, ishali dışkı örneklerinde rutin olarak araştırılmalıdır (811).

Ülkemizde etiyolojik ajanların saptanmasına yönelik çalışmalarda *Rotavirüs*'ten sonra en sık *Adenovirüs* gastroenteriti saptanmaktadır (802, 803).

Ülkemizde ise Balcı ve ark.'nın (802) yaptığı çalışmada *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* en sık 1-2 yaş arasında, Gültepe ve ark.'nın (803) Van'da yaptığı çalışmasında *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* en sık 0-2 yaş arasında saptanmıştır.

Gastroenterit etkeni virüslerin geniş kitleleri etkilemesi ve ağır klinik tablolara yol açmasında temas ortamında uzun süre canlılığını sürdürebilmesi ve patojenitesinin yüksek olması etkilidir. Ayrıca temizlik ve hijyenin yetersiz olduğu kalabalık ortamlarda bulunma sıklığının artması, daha çok fekal oral yolla bulaşan bu etkenlerin öz bakımı yetersiz olan çocukta kolay enfeksiyonlara neden olmasına yol açmaktadır. Dünya geneline bakıldığında gastroenterit vakalarının en sık görüldüğü yerler Güneydoğu Asya ülkeleri ve Afrika gibi sosyoekonomik gelişimi yetersiz, kalabalık nüfuslu bölgelerdir. Bu ülkelerde ishale bağlı ölümler çocuk mortalitesinin en önemli nedenleri arasındadır. Hijyenin yetersiz olduğu kalabalık toplu ortamlar, ishal görülme sıklığını artırmakta hatta salgınlara yol açmaktadır.

Karadağ ve ark.'nın (812) Mart 1999-Aralık 2002 tarihleri arasında Ankara'da gerçekleştirdikleri çalışmalarında dışkıda *Rotavirüs* antijen testi (immünokromatografik yöntem) istenen 1099 hastanın kayıtları geriye yönelik incelenmiş; toplam %36,8 oranında *Rotavirüs* pozitifliği saptanmış, yıllara göre *Rotavirüs* pozitiflik oranında ise anlamlı farklılık gözlenmemiştir. *Rotavirüs* ishali

insidansı, iki yaş altı çocuklarda daha büyük çocuklardan daha yüksektir (813). Velazquez ve ark. (814) *Rotavirüs* enfeksiyonlarının en sık 6-14 aylık çocuklarda görüldüğünü ve iki yaşından sonra enfeksiyonun giderek azaldığını göstermişlerdir. Akdoğan ve ark. (815) *Rotavirüs* pozitif hastalarının %95'inin 6-12 ay yaş grubunda olduğunu saptarken, Doğan N. ve ark. (816) ise *Rotavirüs* pozitifliği oranını en fazla %26,2 oranı ile 12-24 ay yaş grubunda gözlemiştir. Karadağ ve ark.'nın (812) çalışmalarında *Rotavirüs* pozitiflik oranı iki yaşından küçük çocuklarda %43,7 oranıyla, %25 oranındaki iki yaşından büyük çocuklardan anlamlı yüksek bulunmuştur. Ülkemizde yapılan diğer kapsamlı bir çalışmaya baktığımızda *Rotavirüse* bağlı gastroenteritin 13-24 ay arası çocuklarda en fazla olarak izlenip, bunu 25-36 ay arası çocukların izlediği tespit edilmiştir (817). Bozdayı ve ark.'nın (818) çalışmalarında *Rotavirüs* pozitif hastaların büyük çoğunluğu 6-23 ay grubunda saptanmış, hastaneye yatırılanlar dikkate alındığında ise %81,8 oranında hastanın 18 ayından küçük olduğu belirlenmiştir. Zarakolu ve ark. (819) çeşitli klinik ve polikliniklerden gönderilen örneklerle yaptıkları çalışmalarında, Türkiye'deki diğer yayınların aksine *Rotavirüs* pozitif olan hastaların %60'ının 0-6 ay grubunda, %40'ının ise 7-12 ay grubunda olduğu saptanmıştır.

Yapılan araştırmaların sonucuna göre *Rotavirüs* 'ün görülme oranı Afrika'da %10-65, Asya'da %30-50, Avrupa'da %20-40 ve Amerika'da ise %5-25 olarak bildirilmiştir (820). Çalgın ve ark.'nın (821) Ordu'da yapmış oldukları araştırma sonucuna göre ise *Rotavirüs* pozitifliği %17,3, Tekin ve ark.'nın (822) Çanakkale'de yapmış oldukları araştırmada %23,6, Borsa ve ark.'nın (823) Mardin'de yapmış oldukları araştırmada %19,9, Iraz ve Ceylan'ın (824) İstanbul'da yapmış oldukları araştırmada %12,2, Yazıcı ve ark.'nın (825) Kocaeli Derince'de yapmış oldukları araştırmada %22,8, yine İstanbul'da Bayraktar ve ark.'nın (826) yapmış oldukları araştırmada %23,7, Gültepe ve ark.'nın (827) Van'da yapmış oldukları araştırmada %13 olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde farklı bölgelerde yapılan çalışmalara göre diyare görülen çocuklarda *Rotavirüs* pozitifliği %12,2 ile %23,7 arasında gösterilmiştir (821-827).

Rotavirüs enfeksiyonlarının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; İrvem ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada en yüksek oranı 0-1 yaş grubu

oluşturmuş (%47,8); bunu %39,4 oranıyla 1-2 yaş grubu, sırasıyla %5,63, % 4,22, %2,81 oranları ile 3-4, 2-3 ve 4-5 yaş grupları takip etmiştir (820). Altındiş ve ark.'nın (828) yapmış oldukları çalışmada en yüksek olarak sırasıyla 1-2 yaş grubu (%42,9), 0-1 yaş grubu (%21,4), 2-3 yaş grubunda (%14,3) görülmüştür. 3-4 ve 4-5 yaş grubunda ise %7,1 oranında görülmüştür. Yüksel ve ark.'nın (829) yapmış oldukları çalışmada ise 0-2 yaş ve 3-5 yaş gruplarında pozitiflik %22 olarak hesaplanmıştır.

Cinsiyet açısından *Rotavirüs* pozitifliğinde genel olarak ülkemizde yapılan birçok araştırmada fark olmadığı gösterilmiştir (830-834). Ancak Çelik ve ark.'nın (835) yapmış oldukları çalışma sonucuna göre *Rotavirüs* görülme sıklığı kızlarda %70, erkeklerde ise %30 olarak hesaplanmış ve kızlarda erkeklere göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. *Rotavirüs*'e benzer bir şekilde diyare oluşturan enterik *Adenovirüs*'lerde yenidoğan ve küçük çocuklarda ortaya çıkan akut gastroenteritin nedenlerindendir. *Rotavirüs*'e kıyasla daha az olarak görülmektedir (836).

Dört immünokromatografik yöntemin ve üç ELISA yönteminin, in-house PCR yöntemleriyle karşılaştırıldığı bir çalışmada; test kitlerinin duyarlılığının %80-100 arasında olduğu, özgüllüğü %54,3 olarak bulunan bir immünokromatografik yöntem dışında diğer test kitlerinin özgüllüklerinin %99,4-100 arasında olduğu bildirilmiştir (837). Karagün ve ark.'nın (838) yaptığı bir çalışmada; ishal yakınmasıyla hastaneye başvuran 5 yaş altındaki 2988 olgunun taze dışkı örneklerinde *Rotavirüs* antijen aranması immünokromatografik kart test ile yapılmıştır. Dışkı örneklerinin 1082'sinde viral antijen saptanmış ve bunların %25,9'unda *Rotavirüs* pozitifliği bulunmuştur. *Rotavirüs* için duyarlılık ve özgüllük %99,9- %97,8'dir.

Atalay ve ark. (839) Ocak 2009- Aralık 2012 tarihleri arasında akut ishal şikayeti ile başvuran 1102 kız ve 1534 erkek cinsiyette, 0-16 yaş arası çocuklara ait 2636 taze gaita örneğinde *Rotavirüs* antijeni varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar örneklerin 277'si (%25,1) kız çocuklarına ve 386'sı (%25,2) erkek çocuklarına ait olmak üzere toplam 663'ünde (%25,2) *Rotavirüs* antijeni pozitifliği saptamışlardır. Özdemir ve ark.'nın (840) Ağustos 2011-Şubat 2012 tarihleri

arasında karın ağrısı, ishal ve kusma şikâyeti olan hastalardan alınan 300 gaita örneğinde *Rotavirüs* varlığını immünokromatografik yöntem ile araştırmışlardır. Örneklerin 52'sinde (%17,3) *Rotavirüs* belirlenmiştir. Nazik ve ark. (841) 2006-2010 yılları arasında akut gastroenterit ön tanılı çocuklardan alınan 3618 gaita örneğinde *Rotavirüs* antijeninin araştırılması için immünokromatografik yöntem kullanmışlardır ve örneklerin 745'inde (%20,6) *Rotavirüs* antijeni saptamışlardır. Çelik ve ark. (842) Kasım 2011 ve Aralık 2012 yılları arasında ishal atağı ile pediatri polikliniğine ayaktan başvuran 96 hastanın gaita örnekleri ile *Rotavirüs* antijenini immünokromatografik yöntem ile araştırmışlar ve örneklerin %39,6'sında *Rotavirüs* antijeni saptamışlardır. Bütün bu çalışmalarda bizim çalışmamıza benzer oranlarda pozitiflik yakalanmıştır.

Rotavirüs 'e benzer bir şekilde diyare oluşturan enterik *Adenovirüs* 'ler de yenidoğan ve küçük çocuklarda ortaya çıkan akut gastroenteritin nedenlerindendir. *Rotavirüs* 'e kıyasla daha az olarak görülmektedir (836)

Borsa ve ark.'nın (823) Mardin'de yapmış oldukları araştırma sonucuna göre *Adenovirüs* pozitifliği %1,16, Altındış ve ark.'nın (828) yapmış oldukları araştırmada ise pozitiflik %4,5, Doğan ve ark.'nın (830) Gaziantep'te yapmış oldukları çalışmada *Adenovirüs* pozitifliği %4,3, Çaycı ve ark.'nın (831) Samsun'da yapmış oldukları araştırmada *Adenovirüs* pozitifliği %3,3, Kızılırmak ve ark.'nın (843) Düzce'de yapmış oldukları çalışmaya göre *Adenovirüs* pozitifliği %6, Şafak ve ark.'ın (844) Balıkesir'de yapmış olduğu çalışmada *Adenovirüs* pozitifliği %1,9, Balkan ve ark.'nın (845) Erzurum'da yapmış oldukları çalışmada *Adenovirüs* pozitifliği %8,2 olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde yapılan araştırma sonuçlarına göre enterik *Adenovirüs* sıklığının %1,16-8,2 aralığında olduğu gösterilmiştir. Cinsiyet açısından genel olarak *Adenovirüs* pozitifliğinde ülkemizde yapılan birçok araştırma sonucuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (830, 831, 840, 845, 846).

Astrovirüs'ler fekal-oral yolla bulaşır (469). Yiyecek, su ve insan enterik virüs bulaşması için *Astrovirüs*'ler ağırlıklı olarak pediatrik popülasyonu (475) etkilemekle birlikte, yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış konakçılarda enfeksiyonlar da rapor edilmektedir (476). Ek olarak, *Astrovirüs* gastroenteriti de

sağlıklı yetişkinleri etkileyebilir (477). *Astrovirüs*'ler ile enfekte çocukların yaşı, yeni doğanlardan 5 yaşına kadar oldukça değişkendir (478); ancak, enfeksiyon 2 yaşından küçükler arasında daha yaygındır. *Astrovirüs*'ler tüm dünyaya dağılmıştır ve %61'e varan insidanslar bildirilmiş olmasına rağmen, çocuklarda akut, bakteriyel olmayan diyare vakalarının %2-9'uyla ilişkilidir (479). Dünya genelinde ortalama görülme sıklığı %11, kentsel ve kırsal alanlarda sırasıyla %7 ve %23'tür (480).

Astrovirüs'ler dünya çapında çocukları etkileyen gastrointestinal patojenler olarak kabul edilir ve normal sağlıklı yetişkinlerde *Astrovirüs*'ler aracılı hastalıklara ilişkin çok az sayıda rapor vardır (482). *Astrovirüs*'ler, küçük çocuklar arasında viral gastroenteritin üçüncü en yaygın nedenidir, bakteriyel olmayan vakaların %2-9'unu açıklar (464). Serolojik çalışmalar, çoğu çocuğun *Astrovirüs* ile enfekte olduğunu ve erken yaşta virüse karşı antikor geliştirdiğini göstermektedir. Bağışıklığı baskılanmış kişiler ve yaşlılar da yüksek riskli grupları temsil etmektedir. Tipik olarak, *Astrovirüs* enfeksiyonu, kusma, ateş, anoreksiya ve karın ağrısı ile ilişkili, 2 ile 3 gün süren hafif, sulu ishali indükler (483).

Yakın tarihli bir çalışma, genomik ve subgenomik RNA üretimi üzerinde etkili olarak ubiquitin-proteazom sisteminin etkili *Astrovirüs* replikasyonu için gerekli olduğunu belirlemiştir (847).

Bizim çalışmamızda *Astrovirüs*'ler %5 olarak tespit edilirken, 5 hastada koenfeksiyon olarak izlenmiştir. Buna dayanarak rutin taramalara *Astrovirüs*'ün eklenerek etken taraması yapılmasının önemi görülmüştür.

Diyare hastalarında; öykü, klinik özellik, mevsimsel özellik, hastanın yaşı gibi demografik özellikleri yol gösterici olabilir. Laboratuvar testleri kesin tanı koyabilmek açısından önemlidir. Günümüz de hızlı bir şekilde kullanıma giren immüno-kromatografik metod, hızlı ve kullanım kolaylığı gibi faydalarından dolayı tanıda tercih edilebilmektedir. IKG yöntemlerle saptanan antijen pozitif sonuçların, ELISA sonuçlarıyla uyumlu olması, hassasiyeti ve özgüllüklerinin fazla olması da IKG yöntemlerin tercih sebebi olmuştur (848).

ELISA ve kromatografik iki yöntem karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışma, iki yöntem arasındaki uyumun mükemmel olduğunu

göstermektedir ve ELISA'nın duyarlılığı %100 iken kromatografik yönteminde ise %98 dir. Hemen hemen birbirine yakın uyumun yüksek olmasından dolayı, hastanelerde daha ucuz, daha hızlı ve daha kolay uygulanabilir bir tanı yöntemi olan kromatografi yönteminin tercih edildiği söylenebilir. Ülkemizdeki yapılan araştırmalarda genelde kromatografik metod kullanılmıştır. *Rotavirüs* antijen pozitifliği %9,8-%31,9 arasında iken *Adenovirüs* antijen pozitifliğinin %1-%14,9 olduğu bildirilmiştir. Araştırmalar *Adenovirüs* ve *Rotavirüs*'ün koenfeksiyonunda, virüslerin antijen pozitifliğinin %0,3-%1,5 arasında değiştiğini saptamışlardır (849).

Virüsler zaman zaman birkaç gün içinde kendini sınırlayan gastroenteritlere yol açarken, bazen de ciddi dehidrasyona yol açabilmektedir. Özellikle immünsüprese hastalarda gastroenterit nedenlerinin saptanması daha da büyük önem taşımaktadır. *Norovirüs*'e bağlı gastroenteritlerde, diğer gastroenteritlerde olduğu gibi ciddi ekonomik ve iş gücü kayıplarına neden olmaktadır. Kısa sürede yayılabilmesi ve hatta salgınlara yol açabilmesi nedeniyle gastroenteritlerin hızlı laboratuvar tanısı önem kazanmaktadır. Viral gastroenteritlerde etkenin saptanması, bulaşın önlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır.

Hastanemizde immünkromatografik yöntemle viral diyare etkenlerinin hızlı ve doğru olarak saptanması bizim açımızdan önemli bir başarı olarak gösterilebilir.

Gastroenteritler halk sağlığı açısından çok önemli klinik sendromlardır. Zaman zaman salgınlar yaparak toplumları etkilemesi açısından tıbbi önemi artan, her mevsim ve her yaş grubunda rastlanan enfeksiyon türleridir. Enfektif ishallerde mikrobiyolojik tanı esas olmakla birlikte çok çeşitli patojenlerin saptanması her zaman mümkün olmayabilir. Bununla birlikte belirli dönemlerde o bölgede rastlanan etkenlerin araştırılması, ampirik tanı ve tedavi yaklaşımlarına katkı sağlamak açısından önem taşımaktadır.

5. KAYNAKLAR

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC. Color Atlas and Textbook and Diagnostic Microbiology Chapter 20, Lipincott,1997.
2. Guerrant RL. Principles and Syndromes of Enteric Infection, Nausea-Vomiting and noninflammatory Dierrhea, Inflammatory Enterides. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. (editors). Principles and Practice of Infection Diseases, Vol. 1 chapter 75, 77, 79. Churcill Livingstone.1995.
3. Büyüköztürk K. İç Hastalıkları. Kaymakoglu S. (editör). İshaller. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2007: 855-863.
4. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. Cerrahpaşa İç Hastalıkları. Uzun İsmail H. (editör). Kronik Diyare. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007: 816-818.
5. Black RE, Cousens S, Johnson HL. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. Lancet 2010; 375: 1969–1987.
6. Sandy A, Craig and David K. Marx Rosen's Emergency Medicine. Adams J, Marx J, Rosen P, Hockberger R, Walls R. (editors) Concepts and clinical practise 7th ed; 2009: 1200-1215.
7. Marcos LA, Dupont HL. Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. J Infection 2007; 55: 385-393.
8. Richardson S, Grimwood K, Gorrell R. Extended excretion of *rotavirus* after severe diarrhea in young children. Lancet 1998; 351: 1844-1848.
9. Uyar Y. Evaluation of laboratory diagnosis of the first norovirus outbreak in Turkey in 2008. Mikrobiyol Bul 2008; 42: 607-615.
10. Özdamar M. Pediatrik nozokomiyal ishallerde viral etkenlerin saptanması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2004.

11. Guerrant RL, Gilder TV, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32 (3) : 331–351.
12. Yu J, Jing H, Lai S, Xu W, Li M, Wu J, et al. Etiology of diarrhea among children under the age five in China: Results from a five-year surveillance. *Journal of Infection*. 2015; 71: 19-27.
13. Gürbüz F, Tezer H, Şaylı TR. Akut gastroenterit nedeniyle hastaneye yatan hastalarda etkenler ve klinik bulgular: Epidemiyolojik çalışma. *Türkiye Çocuk Hast Derg Dis* 2010; 4 (4): 211-218.
14. Barlett JG. Introduction. In: Rolfe RD, Finefold SM. (editors). *Clostridium difficile: Its role in Intestinal Disease*, San Diego, CA, Academic Pres, Inc, 1988: 408.
15. Pothoulakis C, LaMont JT, *Clostridium difficile* colitis and diarrhea, *Gastroenterol. Clinic, North America*, 1993; 22, 623–637.
16. Allen SD, Emery CL, Lierly DM. *Clostridium*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed, Washington, DC, ASM Press, 2003: 835-856.
17. Allen SD, Baron EJ. *Clostridium* in: Ballows A, Hausler JW, Herman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (editors). *Manual of Clinical Microbiology* 5th Edition Washington DC American Society of Microbiology 1991: 505-521.
18. Linevsky JK, Kelly CP. *Clostridium difficile* colitis. In *Gastrointestinal Infections: Diagnosis and Management*, JT LaMont (editor). New York: Marcel Dekker. 1997: 293-325.
19. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N. Engl. J. Med*. 1994; 330: 257–262.
20. Pothoulakis C. Pathogenesis of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 1996; 8: 1041–1047.
21. Just I, Wilm M, Selzer J. The enterotoxin from *Clostridium difficile* (ToxA) monoglucosylates the Rho proteins. *J. Biol. Chem*. 1995; 270: 13932–13936.

22. Riegler M, Sedivy R, Pothoulakis C. *Clostridium difficile* toxin B is more potent than toxin A in damaging human colonic epithelium in vitro. J. Clin. Invest. 1995; 95: 2004–2011.
23. Pothoulakis C, Gilbert RJ, Cladaras C. Rabbit sucrase-isomaltase contains a functional intestinal receptor for *Clostridium difficile* toxin A. J. Clin. Invest. 1996; 98: 641–649.
24. Price AB, Davies DR. Pseudomembranous colitis. J. Clin. Pathol. 1997; 30: 1–12.
25. Larson HE, Barclay FE, Honour P, Hill ID. Epidemiology of *Clostridium difficile* in infants. J. Infect. Dis. 1982; 146: 727–733.
26. Susan M, Poutanen, Andrew E. Simor *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults CMAJ. 2004 Jul. 6: 171 (1): 51–58.
27. Bartlett JG. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. Ann. Intern. Med. 2006; 145: 758.
28. Pépin J, Saheb N, Coulombe MA. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec. Clin. Infect. Dis. 2005; 41: 1254.
29. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. N.Engl. J. Med. 1989; 320: 204–210.
30. Hirschhorn LR, Trnka Y, Onderdonk A. Epidemiology of communityacquired *Clostridium difficile*-associated diarrhea. J. Infect. Dis. 1994; 169: 127–133.
31. Johnson S, Gerding DN, Olson MM. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. Am. J. Med. 1990; 88: 137–140.
32. Viscidi R, Willey V, Bartlett JG. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations. Gastroenterology 1981; 81: 5–9.
33. Kelly CP. Immune response to *Clostridium difficile* infection. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 1996; 8: 1048–1053.

34. Johnson S, Clabots CR, Linn FV. Nosocomial *Clostridium difficile* colonisation and disease. Lancet 1990; 336: 97–100.
35. Johnson S, Homann SR, Bettin KM. Treatment of asymptomatic *Clostridium difficile* carriers (fecal excretors) with vancomycin or metronidazole. A randomized, placebo-controlled trial. Ann. Intern. Med. 1992; 117: 297–302.
36. Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. JAMA 2015; 313: 398.
37. Tedesco FJ, Corless JK, Brownstein RE. Rectal sparing in antibiotic associated pseudomembranous colitis: a prospective study. Gastroenterology 1982; 83: 1259–1260.
38. Rubin MS, Bodenstein LE, Kent KC. Severe *Clostridium difficile* colitis. Dis. Colon Rectum 1995; 38: 350–354.
39. Morris LL, Villalba MR, Glover JL. Management of pseudomembranous colitis. Am. Surg. 1994; 60: 548–552.
40. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN. A randomized placebocontrolled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. JAMA 1994; 271: 1913–1918.
41. Bolton RP, Sherriff RJ, Read AE. *Clostridium difficile* associated diarrhoea: a role in inflammatory bowel disease? Lancet 1980; 1: 383–384.
42. LaMont JT, Trnka YM. Therapeutic implications of *Clostridium difficile* toxin during relapse of chronic inflammatory bowel disease. Lancet 1980; 1: 381–383.
43. Gerding DN, Johnson S, Peterson LR, Mulligan ME, Silva J. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. Infection Control and Hospital Epidemiology: the Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America 1995; 16(8): 459–477.
44. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases

- society of America (IDSA). Infection Control and Hospital Epidemiology: the Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America 2010; 31(5): 431-455.
45. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2001; 7 (8): 411-416.
 46. Bartlett JG. Clostridium difficile-associated diarrhea and colitis. Infectious Diseases 2ed. 2004: 670-677.
 47. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America 2008; 46 Suppl 1: 12-18.
 48. Dupont HL. Diagnosis and management of *Clostridium difficile* infection. Clinical Gastroenterology and Hepatology: the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association 2013; 11 (10): 1216-1223; quiz e73.
 49. Vaishnavi C. Diagnostic approach to *Clostridium difficile* infection. Indian Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Indian Society of Gastroenterology 2010; 29(4): 137-139.
 50. Burnham CA, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. Clinical Microbiology Reviews 2013; 26 (3): 604-630.
 51. Simor AE. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review. Journal of the American Geriatrics Society 2010; 58 (8): 1556-1564.
 52. Badger VO, Ledebor NA, Graham MB, Edmiston CE Jr. *Clostridium difficile*: epidemiology, pathogenesis, management, and prevention of a recalcitrant healthcare-associated pathogen. JPEN Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 2012; 36 (6): 645-662.
 53. Kundrapu S, Sunkesula VC, Jury LA, Sethi AK, Donskey CJ. Utility of perirectal swab specimens for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clinical Infectious

Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America 2012; 55 (11): 1527-1530.

54. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. The American Journal of Gastroenterology 2013; 108 (4): 478-498: 99.
55. Laughon BE, Viscidi RP, Gdovin SL, Yolken RH, Bartlett JG. Enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens. The Journal of Infectious Diseases 1984; 149 (5): 781-788.
56. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. Annual Review of Microbiology 2011; 65: 501-521.
57. Sharp SE, Ruden LO, Pohl JC, Hatcher PA, Jayne LM, Ivie WM. Evaluation of the C.Diff Quik Chek Complete Assay, a new glutamate dehydrogenase and A/B toxin combination lateral flow assay for use in rapid, simple diagnosis of *clostridium difficile* disease. Journal of Clinical Microbiology 2010; 48 (6): 2082-2086.
58. Wren B, Clayton C, Tabaqchali S. Rapid identification of toxigenic *Clostridium difficile* by polymerase chain reaction. Lancet 1990; 335 (8686): 423.
59. Barkin JA, Nandi N, Miller N, Grace A, Barkin JS, Sussman DA. Superiority of the DNA amplification assay for the diagnosis of *C. difficile* infection: a clinical comparison of fecal tests. Digestive Diseases and Sciences 2012; 57 (10): 2592-2599.
60. Probert CS, Jones PR, Ratcliffe NM. A novel method for rapidly diagnosing the causes of diarrhoea. Gut 2004; 53 (1): 58-61.
61. Ashraf H, Beltinger J, Alam NH, Bardhan PK, Faruque AS, Akter J, et al. Evaluation of faecal occult blood test and lactoferrin latex agglutination test in hospitalized patients for diagnosing inflammatory and noninflammatory diarrhoea in Dhaka, Bangladesh. Digestion 2007; 76 (3-4): 256-261.
62. Van Langenberg DR, Gearry RB, Wong HL, Ward M, Gibson PR. The potential value of faecal lactoferrin as a screening test in hospitalized patients with diarrhoea. Internal Medicine Journal 2010; 40 (12): 819-827.

63. Miller JR, Barrett LJ, Kotloff K, Guerrant RL. A rapid test for infectious and inflammatory enteritis. *Archives of Internal Medicine* 1994; 154 (23): 2660-2664.
64. Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *Journal of Clinical Pathology* 2012; 65(11): 981-985.
65. Bulusu M, Narayan S, Shetler K, Triadafilopoulos G. Leukocytosis as a harbinger and surrogate marker of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea. *The American Journal of Gastroenterology* 2000; 95 (11): 3137-3141.
66. Fedorko DP, Williams EC. Use of cycloserine-cefoxitin-fructose agar and Lproline-aminopeptidase (PRO Discs) in the rapid identification of *Clostridium difficile*. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35 (5): 1258-1259.
67. Teasley DG, Gerding DN, Olson MM. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium-difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet* 1983; 2: 1043–1046.
68. Bolton RP, Culshaw MA. Faecal metronidazole concentrations during oral and intravenous therapy for antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*. 1986; *Gut* 27: 1169–1172.
69. Keighley MR, Burdon DW, Arabi Y. Randomised controlled trial of vancomycin for pseudomembranous colitis and postoperative diarrhoea. *Br. Med. J.* 1978; 2: 1667–1669.
70. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am. J. Gastroenterol.* 1997; 92: 739–750.
71. Tedesco FJ, Gordon D, Fortson WC. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Am. J. Gastroenterol.* 1985; 80: 867–868.
72. MacFadyean F, Stockman S. Report of the department committee appointed by the board of agriculture and fisheries to inquire into epizoonotic abortion, Vol 3. London HMSO. Abstract 1909.

73. Vinzent R, Dumas J, Picard N. Septicemie grave au cours de la grossesse due a un vibron: avortement consecutivie. Bull Acad Nat'l Med. 1947: 131- 190.
74. Vernon M, Chatlain R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* and designation of the neotype strain for the type species. Int J Syst Bacteriol 1973; 23: 122.
75. Haşçelik G. *Campylobacter* Türleri. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editorler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. üçüncü baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2008: 2215-2222.
76. Butzler P, Dekeyser P, Detrain M, Dehaen F. Related vibrio in stools. J Pediatr, 1973; (82): 493–449.
77. Rollins D, Colwell R. Viable but non-culturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in the natural aquatic environment. Appl Environ Microbiol, 1986; 52: 531-538.
78. Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover RH (editors). Manual of clinical microbiology. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1995: 483–491.
79. Altekruze SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. Emerg. Infect. Dis. 1999; 5: 28–35.
80. Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clinical Infectious Diseases. 2001; 32: 1201-1206.
81. Kayman T, Abay S, Kaya E, Bozdoğan B, Aydın F. Gastroenterit orijinli *Campylobacter jejuni* izolatlarında on iki virülans geninin araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2013; 43 (2): 45-49.
82. Snelling WJ, Matsuda M, Moore JE, Dooley JS. G. Under the microscope *Campylobacter jejuni*. Letters in Applied Microbiology. 2005; 41: 297–302.
83. Güney M. Gata Eğitim Hastanesinde Akut Bakteriyel Gastroenterit Etkenleri Arasında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin Yeri ve Bunların Antimikrobiklere Duyarlılıklarının Araştırılması. Ankara. Genel Kurmay Başkanlığı

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Askeri Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2008.

84. Galanis E. Campylobacter and bacterial gastroenteritis. Canadian Medical Association Journal, 2007; 177 (6): 570-571.
85. Fernández Cruz A, Muñoz P, Mohedano R, Valerio M, Marín M, Alcalá L, Bouza E. Campylobacter bacteremia: clinical characteristics, incidence, and outcome over 23 years. Medicine. 2010; 89 (5): 319-330.
86. Lee S, Lee J, Ha J, Choi Y, Kim S, Lee H, Choi KH. Clinical relevance of infections with zoonotic and human oral species of Campylobacter. Journal of Microbiology. 2016; 54 (7): 459-467.
87. Bouza E. Campylobacter bacteremia: clinical characteristics, incidence, and outcome over 23 years. Medicine. 2010; 89 (5): 319-330.
88. Skirrow MB, Blaser MJ. *Campylobacter jejuni*. In: Infections of the gastrointestinal tract, 2nd ed, Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI. (editors). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2002: 719.
89. Tracz DM, Keelan M, Ahmed-Bentley J. pVir and bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* enteritis. Emerg Infect Dis 2005; 11: 838.
90. Matsuaki S, Katayama A. Studies of food poisoning due to outbreaks of *Campylobacter jejuni* between 1980 and 1982 in Yamaguchi prefecture, Japan. Yamaguchi J Vet Med 1984; 11: 53.
91. Skirrow MB, Jones DM, Sutcliffe E, Benjamin J. Campylobacter bacteraemia in England and Wales, 1981-1991. Epidemiol. Infect. 1993; 110: 567.
92. Nielsen H, Hansen KK, Gradel KO. Bacteraemia as a result of Campylobacter species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. Clin. Microbiol. Infect. 2010; 16: 57.
93. DeWitt TG, Humphrey KF, Doern GV. White blood cell counts in patients with Campylobacter-induced diarrhea and in controls. J. Infect. Dis. 1985; 152: 427.
94. Schattner A. *Campylobacter jejuni* and cytopenias. Am. J. Med. 2013; 126: 1020.

95. Smith KE, Besser JM, Hedberg CW. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. Investigation Team. N. Engl. J. Med. 1999; 340: 1525.
96. Tee W, Mijch A. *Campylobacter jejuni* bacteremia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients: comparison of clinical features and review. Clin. Infect. Dis. 1998; 26: 91.
97. Gerritsen van der Hoop A, Veringa EM. Cholecystitis caused by *Campylobacter jejuni*. Clin. Infect. Dis. 1993; 17: 133.
98. Wood CJ, Fleming V, Turnidge J. *Campylobacter* peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis: report of eight cases and a review of the literature. Am. J. Kidney Dis. 1992; 19: 257.
99. Monselise A, Blickstein D, Ostfeld I. A case of cellulitis complicating *Campylobacter jejuni* subspecies *jejuni* bacteremia and review of the literature. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2004; 23: 718.
100. Roan JN, Ko WC, Luo CY. Abdominal septic aortic pseudoaneurysm caused by *Campylobacter jejuni* infection: report of a case. Surg Today 2009; 39: 137.
101. Uzoigwe C. *Campylobacter* infections of the pericardium and myocardium. Clin. Microbiol. Infect. 2005; 11: 253.
102. Townes JM, Deodhar AA, Laine ES. Reactive arthritis following culture-confirmed infections with bacterial enteric pathogens in Minnesota and Oregon: a population-based study. Ann. Rheum. Dis. 2008; 67: 1689.
103. Neal R, Wright JM. Reactive arthritis like symptoms following gastroenteritis an increased risk with severe *Campylobacter* infection. Int. J. Med. Microbiol. 2001; 291: 110.
104. Bremell T, Bjelle A, Svedhem A. Rheumatic symptoms following an outbreak of campylobacter enteritis: a five year follow up. Ann Rheum Dis 1991; 50: 934.
105. Peterson MC. Rheumatic manifestations of *Campylobacter jejuni* and *C. fetus* infections in adults. Scand. J. Rheumatol. 1994; 23: 167.

106. Nachamkin I, Allos BM, Ho T. *Campylobacter* species and Guillain-Barré syndrome. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11: 555.
107. Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Hughes RA. *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. N. Engl. J. Med. 1995; 333: 1374.
108. McCarthy N, Giesecke J. Incidence of Guillain-Barré syndrome following infection with *Campylobacter jejuni*. Am. J. Epidemiol. 2001; 153: 610.
109. Jacobs BC, Hazenberg MP, van Doorn PA. Cross-reactive antibodies against gangliosides and *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides in patients with Guillain-Barré or Miller Fisher syndrome. J. Infect. Dis. 1997; 175: 729.
110. Takahashi M, Koga M, Yokoyama K, Yuki N. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barré and Fisher syndromes in Japan. J. Clin. Microbiol. 2005; 43: 335.
111. Jerris C, Fields I, Nicholson A. Fecal culture for *Campylobacter* and related organisms. In: Garcia LS, Isenberg HD (editors). Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3rd ed. Washington DC: ASM Press; 2007.
112. Gorman R, Adley C. An Evaluation of Five Preservation Techniques and Conventional Freezing Temperatures of -20°C and -85°C for Longterm Preservation of *Campylobacter jejuni*, Letters in Applied Microbiology, 2004: 306–310.
113. Fitzgerald C, Nachamkin I, Murray P. *Campylobacter* and *Arcobacter*, Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, 9th Edition, 2007: 933-946.
114. Fitzgerald C, Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter* In: Versalovic J, Carroll C, Funke G, Jorgensen H, Landry L, Warnock W (editors). Manual of Clinical Microbiology. 10th ed, ASM Press, Washington D.C, 2011: 885-899.
115. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, *Campylobacter jejuni/coli* Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. T.C. Sağlık Bakanlığı, 1915: 18-20.
116. Rautelin H, Jusufovic J, Hanninen ML. Identification of Hippurate Negative Thermophilic *Campylobacters*, Diagn. Microbiol . Infect. Dis. , 1999: 35: 9-12.

117. Erdem Birscl. Campylobacter ve Helicobacter, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Œ, Mutlu G, İmir T, Cengiz T (editörler). 3.baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 531-540.
118. Maridor L, Beaudeau F, Seegers H, Denis M. Rapid identification and quantification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by realtime PCR in pure cultures and in complex samples. BMC Microbiology, 2011: 11: 113.
119. Wang CS, Jalacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7. N. Engl. J. Med. 2000; 342: 1930–1936.
120. Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, Jansen WH, van der Reyden T, Mouton RP. Quinolone resistance in Campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. J. Antimicrob. Chemother 1991; 27: 199–208.
121. Skirrow MB, Blaser MJ. Campylobacter jejuni. In: Blaser M.J, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant R.L (editors). Infections of the gastrointestinal tract. New York: Raven Press, 1995: 825–848.
122. Oh JH, Park MK. Recent trends in Salmonella outbreaks and emerging technology for biocontrol of Salmonella using phages in foods: A Review. J. Microbiol. Biotechnol. 2017; 27 (12) : 2075–2088.
123. Œahan Ö. Tavuklarda salmonella infeksiyonları. Mektup Ankara Derg. 2014; 12 (3): 3-4.
124. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. Basım, İzmir, Barış Yayınları, 2000.
125. Ustaçelebi Œ. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Enterobacteriaceae, Birscl ERDEM (editör), Ankara: Güneş Kitabevi; 1999: 471-514.
126. Akşit F. Bakteriyel Gastroenteritlerde Laboratuvar Tanı. ANKEM Derg. 1994; 8 (No. 3): 239-245.

127. O’Ryan M, Vidal R, del Canto F, Carlos Salazar J, Montero D. Vaccines for viral and bacterial pathogens causing acute gastroenteritis: Part II: Vaccines for *Shigella*, *Salmonella*, enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) and *Campylobacter jejuni*. Human vaccines & immunotherapeutics. 2015; 11(3): 601-619.
128. Gülenen M. Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Salmonella Suşlarında Vürulans Faktörlerin Genotipik olarak İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı. 2015.
129. Vazgeçer B, Temiz A. Salmonella izolasyonu ve tanımlanması. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Derg.2005: 3 (4): 1-27.
130. Mutlu G, İzmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. 1999: 489-502.
131. Keşli R, Bilgin H, Pirgon Ö, Feyzioğlu B, Güzelant A. Çocuklarda son üç yılda gaita örneklerinden izole edilen Salmonella ve Shigella suşlarının antimikrobik direncinin araştırılması (2008-2011). Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2012: 42: 66-72.
132. Hardy A. Salmonella: a continuing problem. Postgraduate Medical Journal. 2004: 80: 541–545.
133. Crump JA, Luby SP, Mintz ED. The global burden of typhoid fever. Bulletin of the World Health Organization. 2004: 82: 346–353.
134. Molbak K, Gerner-Smidt P, Wegener HC. Increasing quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. Emerging Infectious Diseases. 2002: 8: 514–515.
135. Ochiai RL, Acosta CJ, Danovaro-Holliday MC, Baiqing D, Bhattacharya SK, Agtini MD, et al. A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls. Bulletin of the World Health Organization.2008: 86: 260–268.
136. Mweu E, English M. Typhoid fever in children in Africa. Tropical medicine & International Health. 2008: 13: 532–540.

137. 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): 882–889.
138. Galanis E, Lo Fo Wong DM, Patrick ME, Binsztein N, Cieslik A, Chalermchikit T, et al. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000–2002. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12: 381–388.
139. Gordon MA, Graham SM, Walsh AL, Wilson L, Phiri A, Molyneux E, et al. Epidemics of invasive *Salmonella enterica* serovar enteritidis and *S. enterica* Serovar typhimurium infection associated with multidrug resistance among adults and children in Malawi. *Clinical Infectious Diseases*. 2008; 46 (7): 963–969.
140. Barton Behravesh C, Jones TF, Vugia DJ, Long C, Marcus R, Smith K, et al. Deaths associated with bacterial pathogens transmitted commonly through food: foodborne diseases active surveillance network (FoodNet), 1996–2005. *The Journal of Infectious Diseases*. 2011; 204 (2): 263–267.
141. Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C. Surveillance for foodborne-disease outbreaks United States, 1998–2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries* (Washington, DC: 2002). 2006; 10 (55): 1–42.
142. Ezaki T, Amano M, Kawamura Y, Yabuuchi E. Proposal of *Salmonella Paratyphi* sp. and request for an opinion to conserve the specific epithet Paratyphi in the binary combination *Salmonella Paratyphi* as nomen epitheton conservandum. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50 (2) : 941–944.
143. Eng SK, Pusparajah P, Ab Mutalib NS, Ser HL, Chan KG. & Lee LH. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance, *Frontiers in Life Science*. 2015; 8: 3, 284- 293.
144. Chen HM, Wang Y, Chiu CH. Nontyphoid salmonella infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatrics and Neonatology*. 2013; 54: 147-152.
145. Hohmann EL, Acheson D. Nontyphoidal salmonellosis, *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32 (2): 263–269.

146. Sanchez-Vargas FM, Abu-El-Haija MA, Go'mez-Duarte OG. Salmonella infections: An update on epidemiology, management, and prevention. Travel Medicine and Infectious Disease. 2011; 9: 263-277.
147. Brooks GF, Buttel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Eteriz Gram Negative Rods (Enterobacteriaceae). Medical Mikrobiyoloji. 19th Edition, Appleton and Lange, Prentice Hall International Inc, Lebanon, 1991: 212-223.
148. Kongmuang U, Luk JM, Lindberg AA. Comparison of three Stool Processing Methods for Detection of Salmonella Serogrups B, C and D bye PCR. J.Clin. Mikrobiol. 1994; 32 (12): 3072-3074.
149. Patrinos GP and Ansorge W. ; Molecular diagnostics, Academic Press, 2005: 461.
150. Mackay MI, Arden EK. and Nitsche A. Real-time PCR in virology. Nucl. Acids Res. , 2002; 6: 1292-1305.
151. Günel T. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci. 2007; 27: 763-767.
152. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.baskı. Ankara. Güneş Tıp Kitapevi. 1999: 485-502.
153. Chen S, Liao C, Zhang C, Cheng X. Roles of the crp and sipB genes of Salmonella enterica serovar Typhimurium in protective efficacy and immune responses to vaccination in mice. Canadian Journal of Veterinary Research. 2018; 82 (2): 102-105.
154. Niyogi SK. Shigellosis. The Journal of Microbiology. 2005; 43 (2) : 133-143.
155. Ewing WH. Shigella nomenclature. J. Bacteriol. 1949; 57: 633–638.
156. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ, et al. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bull. W. H. O. 1999; 77: 651–666.
157. Sansonetti PJ, Kopecko DJ, Formal SB. Involvement of a plasmid in the invasive ability of *Shigella flexneri*. Infect. Immun. 1982; 35: 852–860.

158. Ogawa M, Sasakawa C. Intracellular survival of *Shigella*. *Cell. Microbiol.* 2006; 8: 177–184.
159. Jiang Y, Yang F, Zhang X, Yang J, Chen L, Yan Y, et al. Jin. The complete sequence and analysis of the large virulence plasmid pSS of *Shigella sonnei*. *Plasmid* 2005; 54: 149–159.
160. Peng J, Zhang X, Yang J, Wang J, Yang E, Bin W, et al. The use of comparative genomic hybridization to characterize genome dynamics and diversity among the serotypes of *Shigella*. *BMC Genomics.* 2006; 7: 218.
161. Prabhurajeshwar C, Kelmani CR. Shigellosis: Its prevention and management issues. *Con Dai & Vet Sci.* 2018; 1 (5). CDVS. MS. ID. 000121.
162. Kumar P, Karmakar S, Prasad R, Chopra R, Khandelwal S, Gupta S, Yadava PK. Persistent diarrhoea in a 5-month-old baby carrying *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 producing Haitian cholera toxin. *New microbes and new infections.* 2018; 21: 72-74.
163. Brooks GF, Buttel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Eteriz Gram Negative Rods (Enterobacteriaceae). *Medical Mikrobiyology.* 19th Edition, Appleton and Lange, Prentice Hall International Inc, Lebanon, 1991, 212-223.
164. Fasano A, Noriega FR, Maneval DR Jr, Chanasongcram S, Russell R, Guandalini S, Levine MM. *Shigella* enterotoxin 1: an enterotoxin of *Shigella flexneri* 2a active in rabbit small intestine in vivo and in vitro. *The Journal of Clinical Investigation.* 1995; 95 (6): 2853-2561.
165. Akşit F. Bakteriyel Gastroenteritlerde Laboratuvar Tanı. *ANKEM Derg.* 1994; 8 (No. 3): 239-245.
166. Phalipon A, Sansonetti PJ. Shigellosis: Innate Mechanisms of Inflammatory Destruction of the Intestinal Epithelium, Adaptive Immune Response, and Vaccine Development. *Critical Reviews in Immunology.* 2003; 23: 371-401.
167. DuPont HL, Levine MM, Hornick RB, Formal SB. Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. *J. Infect. Dis.* 1989; 159: 1126–1128.

168. Gorden J, Small PL. Acid resistance in enteric bacteria. *Infect. Immun.* 1993; 61: 364–367.
169. Islam D, Bandholtz L, Nilsson J, Wigzell H, Christensson B, Agerberth B, Gudmundsson G. Downregulation of bactericidal peptides in enteric infections: a novel immune escape mechanism with bacterial DNA as a potential regulator. *Nat. Med.* 2001; 7: 180–185.
170. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat. Rev. Immunol.* 2004; 4: 953–964.
171. Sansonetti PJ, Arondel J, Cantey R, Prevost MC, Huerre M. Infection of rabbit Peyer's patches by *Shigella flexneri*: effect of adhesive or invasive bacterial phenotypes on follicle-associated epithelium. *Infect. Immun.* 1996; 64: 2752–2764.
172. Man AL, Prieto-Garcia ME, Nicoletti C. Improving M cell-mediated transport across mucosal barriers: do certain bacteria hold the keys? *Immunology.* 2004; 113: 15–22.
173. Mounier J, Vasselon T, Hellio R, Lesourd M, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* enters human colonic Caco-2 epithelial cells through the basolateral pole. *Infect. Immun.* 1992; 60: 237–248.
174. Islam D, Veress B, Bardhan PK, Lindberg AA, Christensson B. In situ characterization of inflammatory responses in the rectal mucosae of patients with shigellosis. *Infect. Immun.* 1997; 65: 739–749.
175. Sansonetti PJ, Phalipon A, Arondel J, Thirumalai K, Banerjee S, Akira S, et al. Caspase-1 activation of IL-1 and IL-18 are essential for *Shigella flexneri*-induced inflammation. *Immunity.* 2000; 12: 581–590.
176. Le-Barillec K, Magalhaes JG, Corcuff E, Thuizat A, Sansonetti PJ, Phalipon A, Di Santo JP. Roles for T and NK cells in the innate immune response to *Shigella flexneri*. *J. Immunol.* 2005; 175: 1735–1740.
177. Sansonetti PJ, Ryter A, Clerc P, Maurelli AT, Mounier J. Multiplication of *Shigella flexneri* within HeLa cells: lysis of the phagocytic vacuole and plasmid-mediated contact hemolysis. *Infect. Immun.* 1986; 51: 461–469.

178. Stevens JM, Galyov EE, Stevens MP. Actin-dependent movement of bacterial pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 2006; 4: 91–101.
179. Pedron T, Thibault C, Sansonetti PJ. The invasive phenotype of *Shigella flexneri* directs a distinct gene expression pattern in the human intestinal epithelial cell line Caco-2. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 33878–33886.
180. Sansonetti PJ, Arondel J, Huerre M, Harada A, Matsushima K. Interleukin-8 controls bacterial transepithelial translocation at the cost of epithelial destruction in experimental shigellosis. *Infect. Immun.* 1999; 67: 1471–1480.
181. Zurawski DV, Mitsuhashi C, Mumy KL, McCormick BA, Maurelli AT. OspF and OspC1 are *Shigella flexneri* type III secretion system effectors that are required for postinvasion aspects of virulence. *Infect. Immun.* 2006; 74: 5964–5976.
182. Perdomo JJ, Gounon P, Sansonetti PJ. Polymorphonuclear leukocyte transmigration promotes invasion of colonic epithelial monolayer by *Shigella flexneri*. *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 633–643.
183. Sakaguchi T, Kohler H, Gu X, McCormick BA, Reinecker HC. *Shigella flexneri* regulates tight junction-associated proteins in human intestinal epithelial cells. *Cell. Microbiol.* 2002; 4: 367–381.
184. Mandic-Mulec I, Weiss J, Zychlinsky A. *Shigella flexneri* is trapped in polymorphonuclear leukocyte vacuoles and efficiently killed. *Infect. Immun.* 1997; 65: 110–115.
185. Way SS, Borczuk AC, Dominitz R, Goldberg MB. An essential role for gamma interferon in innate resistance to *Shigella flexneri* infection. *Infect. Immun.* 1998; 66: 1342–1348.
186. Laohachai KN, Bahadi R, Hardo MB, Hardo PG, Kourie JJ. The role of bacterial and non-bacterial toxins in the induction of changes in membrane transport: implications for diarrhea. *Toxicon* 2003; 42: 687–707.
187. Fasano A, Noriega FR, Liao FM, Wang W, Levine MM. Effect of Shigella enterotoxin 1 (ShET1) on rabbit intestine in vitro and in vivo. *Gut* 1997; 40: 505–511.

188. Cherla RP, Lee SY, Tesh VL. Shiga toxins and apoptosis. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003; 228: 159–166.
189. Kotloff KL, Riddle MS, Platts-Mills JA. Shigellosis. *Lancet* 2018; 391: 801.
190. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food--foodborne diseases active surveillance network, 10 U.S. sites, 1996-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011; 60: 749.
191. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary FoodNet Data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food 10 States, 2008. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2009; 58: 333.
192. Scallan E, Mahon BE, Hoekstra RM, Griffin PM. Estimates of illnesses, hospitalizations and deaths caused by major bacterial enteric pathogens in young children in the United States. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2013; 32: 217.
193. Joh RI, Hoekstra RM, Barzilay EJ. Dynamics of shigellosis epidemics: estimating individual-level transmission and reporting rates from national epidemiologic data sets. *Am J. Epidemiol.* 2013; 178: 1319.
194. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). National Shigella Surveillance Annual Report, 2012. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2014.
195. Painter JA, Hoekstra RM, Ayers T. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19: 407.
196. Liu J, Platts-Mills JA, Juma J. Use of quantitative molecular diagnostic methods to identify causes of diarrhoea in children: a reanalysis of the GEMS case-control study. *Lancet* 2016; 388: 1291.
197. Kosek M, Yori PP, Pan WK. Epidemiology of highly endemic multiply antibiotic-resistant shigellosis in children in the Peruvian Amazon. *Pediatrics* 2008; 122: 541.

198. Livio S, Strockbine NA, Panchalingam S. *Shigella* isolates from the global enteric multicenter study inform vaccine development. Clin. Infect. Dis. 2014; 59: 933.
199. Ahmed F, Clemens JD, Rao MR. Community-based evaluation of the effect of breast-feeding on the risk of microbiologically confirmed or clinically presumptive shigellosis in Bangladeshi children. Pediatrics 1992; 90: 406.
200. Stoll BJ, Glass RI, Huq MI. Epidemiologic and clinical features of patients infected with *Shigella* who attended a diarrheal disease hospital in Bangladesh. J. Infect. Dis. 1982; 146: 177.
201. Maurelli AT, Lampel KA. *Shigella*. In: Foodborne Disease Handbook, Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO (editörs). Marcel Dekker, New York 1994: 321.
202. Acheson DW, Keusch GT. *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. In: Infections of the Gastrointestinal Tract, Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI (editörs), Raven Press, New York 1995: 765.
203. McCrickard LS, Crim SM, Kim S, Bowen A. Disparities in severe shigellosis among adults - Foodborne diseases active surveillance network, 2002-2014. BMC Public Health 2018; 18: 221.
204. Khan WA, Griffiths JK, Bennish ML. Gastrointestinal and extra-intestinal manifestations of childhood shigellosis in a region where all four species of *Shigella* are endemic. PLoS One 2013; 8: 64097.
205. Bennish ML. Potentially lethal complications of shigellosis. Rev. Infect. Dis. 1991; 13 Suppl 4: S319.
206. Bennish ML, Azad AK, Yousefzadeh D. Intestinal obstruction during shigellosis: incidence, clinical features, risk factors, and outcome. Gastroenterology 1991; 101: 626.
207. Azad MA, Islam M, Butler T. Colonic perforation in *Shigella dysenteriae* 1 infection. Pediatr. Infect. Dis. 1986; 5: 103.
208. Martin T, Habbick BF, Nyssen J. Shigellosis with bacteremia: a report of two cases and a review of the literature. Pediatr. Infect. Dis. 1983; 2: 21.

209. Struelens MJ, Patte D, Kabir I. Shigella septicemia: prevalence, presentation, risk factors and outcome. *J. Infect. Dis.* 1985; 152: 784.
210. Morduchowicz G, Huminer D, Siegman-Igra Y. Shigella bacteremia in adults. A report of five cases and review of the literature. *Arch. Intern. Med.* 1987; 147: 2034.
211. Keddy KH, Sooka A, Crowther-Gibson P. Systemic shigellosis in South Africa. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54: 1448.
212. Keusch GT, Bennish ML. Shigellosis: recent progress, persisting problems and research issues. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1989; 8: 713.
213. Butler T, Islam MR, Bardhan PK. The leukemoid reaction in shigellosis. *Am. J. Dis. Child.* 1984; 138: 162.
214. Khan WA, Dhar U, Salam MA. Central nervous system manifestations of childhood shigellosis: prevalence, risk factors, and outcome. *Pediatrics* 1999; 103: 18.
215. Porter CK, Choi D, Riddle MS. Pathogen-specific risk of reactive arthritis from bacterial causes of foodborne illness. *J Rheumatol* 2013; 40: 712.
216. Simon DG, Kaslow RA, Rosenbaum J. Reiter's syndrome following epidemic shigellosis. *J Rheumatol* 1981; 8: 969.
217. Siegler RL. The hemolytic uremic syndrome. *Pediatr. Clin. North Am.* 1995; 42: 1505.
218. Murphy TV, Nelson JD. Shigella vaginitis: report of 38 patients and review of the literature. *Pediatrics* 1979; 63: 511.
219. Tobias JD, Starke JR, Tosi MF. Shigella keratitis: a report of two cases and a review of the literature. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987; 6: 79.
220. Rubenstein JS, Noah ZL, Zales VR, Shulman ST. Acute myocarditis associated with *Shigella sonnei* gastroenteritis. *J. Pediatr.* 1993; 122: 82.
221. Taroyan G, Juergens AL. Enterohemorrhagic colitis with disseminated intravascular coagulation. In *Baylor University Medical Center Proceedings*. Taylor & Francis, 2018.

222. Walsh PS, Erlich HA, Higuchi R. Genome Research, 1992.
223. Tutar E, Köksalan E, Akyol İ. Tarım ve Doga Dergisi, 2015. (researchgate.net).
224. Dupont HL. Shigella species (bacillary dysentery). In: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th Ed, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, Philadelphia. 2005: 2655.
225. Baer JT, Vugia DJ, Reingold AL. HIV infection as a risk factor for shigellosis. Emerg Infect Dis 1999; 5: 820.
226. Christopher PR, David KV, John SM, Sankarapandian V. Antibiotic therapy for *Shigella* dysentery. Cochrane Database Syst Rev 2010: CD006784.
227. Rojas-Lopez M, Monterio R, Pizza M, Desvaux M, Rosini R. Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Insights for Vaccine Development. Frontiers in Microbiology. 2018; 9: 440.
228. Arslan D. İshal Oluşturan *Escherichia coli* İnfeksiyonları: Epidemiyoloji, Klinik, Tedavi. ANKEM Derg. 2008; 22 (Ek 2): 192-196.
229. Aytaç SA, Mercanoğlu B, Özbaş ZY. Tampon çözeltide immunomanyetik ayırma ve ATP biyoluminesans yöntemleri ile *Escherichia coli* O157: H7 sayımı. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2001; 58 (2): 49 – 52.
230. Lupindu AM. Epidemiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 in Africa. Southern African Journal of Infectious Diseases 2018; 33(1): 24–30.
231. Temelli S. Gıda Zehirlenmesine Neden Olan E.coli O157: H7 ve Önemi. Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 2002; 21: 133-138.
232. O’Ryan M, Vidal R, del Canto F, Carlos Salazar J, Montero D. Vaccines for viral and bacterial pathogens causing acute gastroenteritis: Part II: Vaccines for *Shigella*, *Salmonella*, enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) and *Campylobacter jejuni*. Human vaccines & immunotherapeutics. 2015; 11 (3): 601-619.
233. Law D. Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. Journal of Applied Microbiology. 2008; 8 (5): 729-745.

234. Majowicz SE, Scallan E, Jones-Bitton A. Global incidence of human Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis. *Foodborne Pathog. Dis.* 2014; 11: 447.
235. Hancock DD, Besser TE, Rice DH. A longitudinal study of *Escherichia coli* O157 in fourteen cattle herds. *Epidemiol. Infect.* 1997; 118: 193.
236. Luna-Gierke RE, Wymore K, Sadlowski J. Multiple-aetiology enteric infections involving non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*--FoodNet, 2001-2010. *Zoonoses Public Health* 2014; 61: 492.
237. Tarr GA, Shringi S, Oltean HN. Importance of case age in the purported association between phylogenetics and hemolytic uremic syndrome in *Escherichia coli* O157: H7 infections. *Epidemiol. Infect.* 2018; 146: 1550.
238. Heiman KE, Mody RK, Johnson SD. *Escherichia coli* O157 Outbreaks in the United States, 2003-2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21: 1293.
239. La Ragione RM, Best A, Woodward MJ, Wales AD. *Escherichia coli* O157:H7 colonization in small domestic ruminants. *FEMS Microbiol Rev* 2009; 33: 394.
240. Tseng M, Fratamico PM, Manning SD, Funk JA. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine: the public health perspective. *Anim Health Res Rev* 2014; 15: 63.
241. Varma JK, Greene KD, Reller ME. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *JAMA* 2003; 290: 2709.
242. Bender JB, Hedberg CW, Besser JM. Surveillance for *Escherichia coli* O157: H7 infections in Minnesota by molecular subtyping. *N Engl J Med* 1997; 337-388.
243. Ostroff SM, Kobayashi JM, Lewis JH. Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. The first year of statewide disease surveillance. *JAMA* 1989; 262: 355.
244. Klein EJ, Stapp JR, Clausen CR. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children with diarrhea: a prospective point-of-care study. *J Pediatr* 2002; 141: 172.

245. McKee RS, Schnadower D, Tarr PI. Predicting Hemolytic Uremic Syndrome and Renal Failure in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infected Children. Clin. Infect. Dis. 2019.
246. Shane AL, Mody RK, Crump JA. Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. Clin. Infect. Dis. 2017; 65: 45.
247. Qin X, Klein EJ, Galanakis E. Real-Time PCR Assay for Detection and Differentiation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Clinical Samples. J. Clin. Microbiol. 2015; 53: 2148.
248. Fey PD, Wickert RS, Rupp ME. Prevalence of non-O157: H7 shiga toxin-producing *Escherichia coli* in diarrheal stool samples from Nebraska. Emerg. Infect. Dis. 2000; 6: 530.
249. Church DL, Emshey D, Semeniuk H. Evaluation of BBL CHROMagar O157 versus sorbitol-MacConkey medium for routine detection of *Escherichia coli* O157 in a centralized regional clinical microbiology laboratory. J. Clin. Microbiol. 2007; 45: 3098.
250. Anderson NW, Tarr PI. Multiplex Nucleic Acid Amplification Testing to Diagnose Gut Infections: Challenges, Opportunities, and Result Interpretation. Gastroenterol. Clin. North. Am. 2018; 47: 793.
251. Imdad A, Retzer F, Thomas LS. Impact of Culture-Independent Diagnostic Testing on Recovery of Enteric Bacterial Infections. Clin Infect Dis 2018; 66: 1892.
252. Grisaru S, Xie J, Samuel S. Associations Between Hydration Status, Intravenous Fluid Administration, and Outcomes of Patients Infected With Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Pediatr 2017; 171-178.
253. Ake JA, Jelacic S, Ciol MA. Relative nephroprotection during *Escherichia coli* O157:H7 infections: association with intravenous volume expansion. Pediatrics 2005; 115: 673.

254. Balestracci A, Martin SM, Toledo I. Dehydration at admission increased the need for dialysis in hemolytic uremic syndrome children. *Pediatr. Nephrol.* 2012; 27: 1407.
255. Hickey CA, Beattie TJ, Cowieson J. Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2011; 165: 884.
256. Alconcher LF, Coccia PA, Suarez ADC. Hyponatremia: a new predictor of mortality in patients with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* hemolytic uremic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2018; 33: 1791.
257. Freedman SB, Xie J, Neufeld MS. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection, Antibiotics, and Risk of Developing Hemolytic Uremic Syndrome: A Meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 62: 1251.
258. Cimolai N, Carter JE, Morrison BJ, Anderson JD. Risk factors for the progression of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis to hemolytic-uremic syndrome. *J. Pediatr.* 1990; 116: 589.
259. Bell BP, Griffin PM, Lozano P. Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *Pediatrics* 1997; 100: E12.
260. Robson WL, Leung AK, Montgomery MD. Causes of death in hemolytic uremic syndrome. *Child. Nephrol. Urol.* 1991; 11: 228.
261. Chen XM, Keithly JS, Paya CV, LaRusso NF. Cryptosporidiosis. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 17-23.
262. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clinics in Laboratory Medicine*, 1991; 11: 873-897.
263. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiological Reviews*, 2004; 17: 72-97.

264. Galvan AL, Magnet A, Izquierdo F, Fernandez Vadillo C, Peralta RH, Angulo S, et al. A year-long study of *Cryptosporidium* species and subtypes in recreational, drinking and wastewater from the central area of Spain. *Science of the Total Environment*, 2014; 468-469: 368-375.
265. Özbel MA, Ak M. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. 1.Baskı. İzmir, Tıbbi Parazitoloji Derneği Yayın No: 22, 2007: 363-376.
266. Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA. *Cryptosporidium parvum*. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2003, 27: 64-70.
267. Dillingham RA, Lima AA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection*, 2002; 4: 1059-1066.
268. Egyed Z, Sreter T, Szell Z, Varga L. Characterization of *Cryptosporidium* spp. Recent developments and future needs. *Vet. Parasitol.* 2003; 111: 103-114.
269. Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan S. Review of the Biology and Epidemiology of Cryptosporidiosis in Humans and Animals. *Microbes and Infection*. 2004; 6: 773–785.
270. Leav BA, Mackay M, Ward HD. *Cryptosporidium* Species: New Insights and Old hallenges. *Clinical Infectious Diseases*. 2003; 36: 903–908.
271. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 1991: 325-358.
272. Fayer R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.* 2010; 124 (1): 90-97.
273. Xiao L, Sulaiman IM, Ryan UM, Zhou L, Atwill ER, Tischler ML, et al. Host Adaptation and Host–Parasite Coevolution in *Cryptosporidium*: Implications for Taxonomy and Public Health. *International Journal for Parasitology*. 2002; 32: 1773-1785.
274. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: Biology, Pathogenesis and Disease *Microbes and Infection*. 2002; 4: 1047–1058.

275. Joachim A. Human Cryptosporidiosis: An Update With Special Emphasis on the Situation in Europe. *J. Vet. Med.* 2004; 51: 251–259.
276. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. İstanbul. Esnaf Ofset Matbaacılık, Kasım, 1998: 78-80.
277. Hammes IS, Gjerde B, Robertson L. Prevalence of Giardia and Cryptosporidium in dairy calves in three areas of Norway. *Veterinary Parasitology*. 2006; 140: 204-216.
278. Current WL, Bick PH. Immunology of Cryptosporidium spp. *Pathology and Immunopathology Research*, 1989; 8: 141-160.
279. Sears CL, Kirckpatrick BD. Cryptosporidiosis and isosporidiosis. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. John Wiley & Sons Ltd. Pres. 2001: 139-164.
280. Fayer R. Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*. 2004; 126: 37–56.
281. Starling CR, Arrowood MJ. Cryptosporidia. *Parasitic Protozoa*. Academic Pres. 1993; 6 (65): 159-224.
282. Marshall MM, Naumovitz D, Ortega Y, Sterling CR. Waterborne Protozoan Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997; 10 (1): 67–85.
283. Fayer R, Ungar BLP. Cryptosporidium sp and cryptosporidiosis, *Microbiol. Rev*, 1986; 50: 458-483.
284. Ungar BLP. Infectious Diseases and Their Etiologic Agents in Principle and Practise of Infectious Diseases in: Mandell GL, Bennet JE (editors). New York, Churchill Livingstone. 1995: 2500-2510.
285. White AC. Cryptosporidiosis In *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Baskı. New York, Churchill Livingstone Inc. 2005: 3215-3228.
286. Kandil HM, Berschneider HM, Argenzio RA. Tumour necrosis factor alpha changes porcine intestinal ion transport through a paracrine mechanism involving prostaglandins. *Gut*, 1994; 35: 934-940.

287. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet* 2013; 382: 209.
288. Mor SM, Tzipori S. Cryptosporidiosis in children in Sub-Saharan Africa: a lingering challenge. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47: 915.
289. Bouzid M, Kintz E, Hunter PR. Risk factors for *Cryptosporidium* infection in low and middle income countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12: e0006553.
290. Stensvold CR, Ethelberg S, Hansen L. *Cryptosporidium* infections in Denmark, 2010-2014. *Dan. Med. J.* 2015: 62.
291. Graciaa DS, Cope JR, Roberts VA. Outbreaks Associated with Untreated Recreational Water United States, 2000-2014. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2018; 67: 701.
292. Nic Lochlainn LM, Sane J, Schimmer B. Risk Factors for Sporadic Cryptosporidiosis in the Netherlands: Analysis of a 3-Year Population Based Case-Control Study Coupled With Genotyping, 2013-2016. *J. Infect. Dis.* 2019: 219: 1121.
293. Huang DB, White AC. An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2006; 35: 291.
294. Chappell CL, Okhuysen PC, Langer-Curry R. *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75: 851.
295. Juranek DD. Cryptosporidiosis: sources of infection and guidelines for prevention. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 21 Suppl. 1: S57.
296. McAnulty JM, Fleming DW, Gonzalez AH. A community-wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *JAMA* 1994; 272: 1597.
297. Pönkä A, Kotilainen H, Rimhanen-Finne R. A foodborne outbreak due to *Cryptosporidium parvum* in Helsinki, November 2008. *Euro Surveill* 2009; 14.

298. Korpe PS, Gilchrist C, Burkey C. Case-Control Study of *Cryptosporidium* Transmission in Bangladeshi Households. Clin. Infect. Dis. 2019; 68: 1073.
299. Vandenberg O, Robberecht F, Dauby N. Management of a *Cryptosporidium hominis* outbreak in a day-care center. Pediatr. Infect. Dis. J. 2012; 31: 10.
300. Korpe PS, Gilchrist C, Burkey C. Case-Control Study of *Cryptosporidium* Transmission in Bangladeshi Households. Clin. Infect. Dis. 2019; 68: 1073.
301. Drinkard LN, Halbritter A, Nguyen GT. Notes from the Field: Outbreak of Cryptosporidiosis Among Veterinary Medicine Students--Philadelphia, Pennsylvania, February 2015. MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep. 2015; 64: 773.
302. Su CP, Stover DT, Buss BF. Occupational Animal Exposure Among Persons with Campylobacteriosis and Cryptosporidiosis. Nebraska, 2005-2015. MMWR Morb Mortal Wkly. Rep. 2017; 66: 955.
303. Tilley M, McDonald V, Bancroft GJ. Resolution of cryptosporidial infection in mice correlates with parasite-specific lymphocyte proliferation associated with both Th1 and Th2 cytokine secretion. Parasite Immunol. 1995; 17: 459.
304. Newman RD, Zu SX, Wuhib T. Household epidemiology of *Cryptosporidium parvum* infection in an urban community in northeast Brazil. Ann Intern Med. 1994; 120: 500.
305. Davies AP, Chalmers RM. Cryptosporidiosis. BMJ 2009; 339: 41-68.
306. Petersen C. *Cryptosporidium* and the food supply. Lancet 1995; 345: 11-28.
307. Janoff EN, Limas C, Gebhard RL, Penley KA. Cryptosporidial carriage without symptoms in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Ann Intern Med. 1990; 112: 75.
308. Mor SM, DeMaria A, Griffiths JK, Naumova EN. Cryptosporidiosis in the elderly population of the United States. Clin. Infect. Dis. 2009; 48: 698.
309. Stiff RE, Davies AP, Mason BW. Long-term health effects after resolution of acute *Cryptosporidium parvum* infection: a 1-year follow-up of outbreak-associated cases. J. Med. Microbiol. 2017; 66: 1607.

310. Gross TL, Wheat J, Bartlett M, O'Connor KW. AIDS and multiple system involvement with cryptosporidium. *Am. J. Gastroenterol.* 1986; 81: 456.
311. Jokipii L, Jokipii AM. Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315: 1643.
312. Genta RM, Chappell CL, White AC. Duodenal morphology and intensity of infection in AIDS-related intestinal cryptosporidiosis. *Gastroenterology* 1993; 105: 1769.
313. Casemore DP. Laboratory methods for diagnosing *Cryptosporidiosis*. *J. Clin. Pathol.* 1991; 44: 445-451.
314. Mandel GL, Bennett JE, Dolin R. *Cryptosporidiosis (Cryptosporidium hominis, Cryptosporidium parvum, and other species)*. White AC (editor). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Philadelphia, Churchill Livingstone Inc. 2005: 3215-3228.
315. Gilles H. *Cryptosporidiosis*. Hart CA (editor). *Protozoal Diseases*. New York Oxford University Press. 1999: 592-606.
316. Cox FEG. History of Human Parasitology. *Clinical Microbiology Reviews.* 2002; 15 (4): 595–612.
317. Weber R, Bryan RT, Juranek DD. Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30 (11): 286-287.
318. Garcia LA, Bruckner DA. Intestinal protozoa: Coccidia and Microsporidia, *Diagnostic Medical Parasitology*. Washington DC, ASM Press. 1997: 59-63.
319. Fahey TMD. *Cryptosporidiosis*. *Infectious Disease Update.* 2003; 10 (2): 75-80.
320. Wu Z, Nagano I, Boonmars T, Takahashi Y. Further Evidence That Genotype I and Genotype II of *Cryptosporidium parvum* Are Disti Health. 2004; 32 (1): 5-14.
321. Balatbat AB, Jordan GW, Tang YJ, Silva J. Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in Human Feces by Nested PCR. *Journal of Clinical Microbiology.* 1996; 34 (7): 1769–1772.

322. Limor JR, Lal AA, Xiao L. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* parasites that are pathogenic for humans by Real-Time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (7): 2335-2338.
323. Awad-El-Kar EM, Robinson HA, Petry F, McDonald V, Evans D, Casemore D. Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using molecular and biological markers. *Parasitol. Res.* 1998; 84: 297-301.
324. Di Giovanni GD, Hashemi FH, Shaw NJ, Abrams FA, Le Chevallier MW, Abbaszadegan M. Detection of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts insurface and fitler backwash samples by immunomagnetic separation and integrated cell culture-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65 (8): 3427-3432.
325. Widmer G, Orbach EA, Tzipori S. β -tubulin mRNA as a marker of *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *App. and Env. Microbiol.* 1999; 65(4): 1584-1588.
326. Pedraza-Díaz S, Amar C, Nichols GL, McLauchlin J. Nested Polymerase Chain Reaction for Amplification of the *Cryptosporidium* Oocyst Wall Protein Gene. *Emerging Infectious Diseases.* 2001; 7 (1): 49-56.
327. McDonald V, Stables R, Warhurst DC. In Vitro Cultivation of *Cryptosporidium parvum* and Screening for Anticryptosporidial Drugs. *Antimicrob Agents Che mother.* 1990; 34 (8): 1498-500.
328. Yalçın I, Uzel N, Salman N, Somer A, Önes Ü. Enfeksiyon Hastalıkları. Neyzi O, Ertugrul T (editorler). *Pediatric (3. baskı) cilt 1.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2002: 559-561, 508-514.
329. Tzipori S. Cryptosporidiosis in Animals and Humans. *Microbiological Reviews.* 1983; 84-96.
330. Wilson WR. Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi, Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 824-827.
331. Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011; 24: 110.

332. Thompson RCA, Hopkins RM, Homan WL. Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitology Today*.2000; (16): 210-213.
333. Plutzer J, Ongerth J, Karanis P. *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2010; (213): 321-333.
334. Daldal N, Özensoy S. *Giardia intestinalis* 'in morfolojisi ve evrimi. Özcel MA, Üner A (editorler). *Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. no: 14; İzmir: 1997: 1-16*.
335. (<http://www.cdc.gov/parasites/giardia/pathogen.html>)
336. Roxström-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svard SG. *Giardia* immunity-an update. *Trends in Parasitology* 2006; 22 (1): 26-31.
337. Ak M, Türk M, Güneş K. *Giardiosis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M (editörler). Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 22; İzmir. 2007: 323-344*.
338. Cotton JA, Beaty JK, Buret AG. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. Invited Review. *International Journal For Parasitology* 2011; 41: 925-933.
339. Ketelaris P, Seow F, Ngu M. The effect of *Giardia lamblia* trophozoites on lipolysis in vitro. *Parasitology* 1991; 103: 35-39.
340. Alkan MZ. *Giardiosisde patogenezi. Özcel M. A, Üner A (editorler). Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. no: 14. İzmir: 1997: 37-40*.
341. Ventura LLA, Oliveira DR, Viana JC, Santos JFG, Caliri MV, Gomes MA. Impact of protein malnutrition on histological parameters of experimentally infected animals with *Giardia lamblia*. *Experimental Parasitology* 2013 Apr; 133 (4): 391-395.
342. Markell EK, Vogt M, John DT. *Medical Parasitology*. 7th ed, W.B. Saunders Company; 1992: 63-79.

343. Gillin FD, Reiner DS, McCaffery M. Organelles of protein transport in *Giardia lamblia*. Parasitology Today 1991; 7: 113-116.
344. Roberts DM, Craft JC, Mather FJ. Prevalence of giardiasis in patients with cystic fibrosis. J. Pediatr. 1988; 112: 555.
345. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. PLoS One 2013; 8: e72788.
346. Muhsen K, Levine MMA. Systematic review and meta-analysis of the association between *Giardia lamblia* and endemic pediatric diarrhea in developing countries. Clin. Infect. Dis. 2012; 55 Suppl 4: S271.
347. Reses HE, Gargano JW, Liang JL. Risk factors for sporadic *Giardia* infection in the USA: a case-control study in Colorado and Minnesota. Epidemiol. Infect. 2018; 146: 1071.
348. Kocazeybek B. Özel Bir Hastanede Akut Gastrointestinal Enfeksiyon Etkeni Mikroorganizmaların Prevalansının Araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2001; 31(1-2): 69-72.
349. Yılmaz Ü, Östan İ, Kayran E, Özbilgin A. Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2000-2001 Yıllarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 6 (1): 60-63.
350. Çelik T, Atambay M, Daldal N. Malatya ilinde ishallerde bağırsak protozoonlarının dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2003; 27 (2): 136-138.
351. Üner A, Ertuğ S. Giardiasis'in Epidemiyolojisi. Özcel MA, Üner A. (editorler). Giardiasis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. No: 14; İzmir: 1997: 17-35.
352. Hill DR, Nash TE. Intestinal flagellate and ciliate infections. In: Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice, 3rd ed, Guerrant RL, Walker DA, Weller PF (editorler), Saunders Elsevier, Philadelphia 2011: 623.
353. Nash TE, Herrington DA, Losonsky GA, Levine MM. Experimental human infections with *Giardia lamblia*. J. Infect. Dis. 1987; 156: 974.

354. López CE, Dykes AC, Juranek DD. Waterborne giardiasis: a communitywide outbreak of disease and a high rate of asymptomatic infection. *Am. J. Epidemiol.* 1980; 112: 495.
355. Cantey PT, Roy S, Lee B. Study of nonoutbreak giardiasis: novel findings and implications for research. *Am. J. Med.* 2011; 124: 1175.
356. Singh KD, Bhasin DK, Rana SV. Effect of *Giardia lamblia* on duodenal disaccharidase levels in humans. *Trop. Gastroenterol.* 2000; 21: 174.
357. Rana SV, Bhasin DK, Vinayak VK. Lactose hydrogen breath test in *Giardia lamblia*-positive patients. *Dig. Dis. Sci.* 2005; 50: 259.
358. Lengerich EJ, Addiss DG, Juranek DD. Severe giardiasis in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 1994; 18: 760.
359. Mørch K, Hanevik K, Robertson LJ. Treatment-ladder and genetic characterisation of parasites in refractory giardiasis after an outbreak in Norway. *J. Infect.* 2008; 56: 268.
360. Gunasekaran TS, Hassall E. Giardiasis mimicking inflammatory bowel disease. *J. Pediatr.* 1992; 120: 424.
361. Prado MS, Cairncross S, Strina A. Asymptomatic giardiasis and growth in young children; a longitudinal study in Salvador, Brazil. *Parasitology* 2005; 131: 51.
362. Halliez MC, Buret AG. Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infections. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19: 8974.
363. Painter JE, Collier SA, Gargano JW. Association between *Giardia* and arthritis or joint pain in a large health insurance cohort: could it be reactive arthritis? *Epidemiol. Infect.* 2017; 145: 471.
364. Nakao JH, Collier SA, Gargano W. Giardiasis and Subsequent Irritable Bowel Syndrome: A Longitudinal Cohort Study Using Health Insurance Data. *J. Infect. Dis.* 2017; 215: 798.

365. Hanevik K, Wensaas KA, Rortveit G. Irritable bowel syndrome and chronic fatigue 6 years after giardia infection: a controlled prospective cohort study. Clin. Infect. Dis. 2014; 59: 1394.
366. Dykes AC, Juranek DD, Lorenz RA. Municipal waterborne giardiasis: an epidemiologic investigation. Beavers implicated as a possible reservoir. Ann. Intern. Med. 1980; 92: 165.
367. McClung RP, Roth DM, Vigar M. Waterborne disease outbreaks associated with environmental and undetermined exposures to water - United States, 2013-2014. Am. J. Transplant. 2018; 18: 262.
368. Adam EA, Yoder JS, Gould LH. Giardiasis outbreaks in the United States, 1971-2011. Epidemiol. Infect. 2016; 144: 2790.
369. Overturf GD. Endemic giardiasis in the United States role of the daycare center. Clin. Infect. Dis. 1994; 18: 764.
370. Escobedo AA, Almirall P, Alfonso M. Sexual transmission of giardiasis: a neglected route of spread? Acta Trop. 2014; 132: 106.
371. Heyworth MF. Diagnostic testing for Giardia infections. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2014; 108: 123.
372. Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 1526.
373. Al FD, Kuştimur S, Ozekinci T. The use of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and direct fluorescent antibody (DFA) methods for diagnosis of *Giardia intestinalis*. Turkiye Parazitol. Derg. 2006; 30: 275.
374. Rosoff JD, Sanders CA, Sonnad SS. Stool diagnosis of giardiasis using a commercially available enzyme immunoassay to detect Giardia-specific antigen 65 (GSA 65). J Clin Microbiol 1989; 27: 1997.

375. Aziz H, Beck CE, Lux MF, Hudson MJA. Comparison study of different methods used in the detection of *Giardia lamblia*. Clin. Lab. Sci. 2001; 14: 150.
376. Harvey K, Esposito DH, Han P. Surveillance for travel-related disease--GeoSentinel Surveillance System, United States, 1997-2011. MMWR Surveill Summ 2013; 62: 1.
377. Pickering LK, Woodward WE, DuPont HL, Sullivan P. Occurrence of *Giardia lamblia* in children in day care centers. J. Pediatr. 1984; 104: 522.
378. Muhsen K, Levine MMA. Systematic review and meta-analysis of the association between *Giardia lamblia* and endemic pediatric diarrhea in developing countries. Clin. Infect. Dis. 2012; 55 Suppl 4: S271.
379. Singh KD, Bhasin DK, Rana SV. Effect of *Giardia lamblia* on duodenal disaccharidase levels in humans. Trop Gastroenterol 2000; 21: 174.
380. Kean BH. A history of amebiasis. In Ravdin JL (editor), Amebiasis: human infection by *Entamoeba histolytica*. John Wiley & Sons, Inc, New York, N.Y. 1988: 1-10.
381. Clark CG, Espinosa Cantellano M, Bhattacharya A. *Entamoeba histolytica*: an overview of the biology of the organism, In J. I. Ravdin (editor), Amebiasis. Imperial College Press, London, United Kingdom. 2000: 1-45.
382. Saklatvala T. Milestones in parasitology. Parasitol. Today. 1993; 9: 347-348.
383. Stilwell GG. Amebiasis: its early history. Gastroenterology. 1955; 28: 606.
384. Rogers L. The rapid cure of amoebic dysentery and hepatitis by hypodermic injection of soluble salts of emetine. Br. Med. J. 1912; 1: 1424.
385. Walker EL, Sellards AW. Experimental entamoebic dysentery. Philipp. J. Sci. B. Trop. Med. 1913; 8: 253.
386. Brumpt EE. Étude sommaire de l' "*Entamoeba dispar*" n. sp. Amibe à kystes quadrinucléés, parasite de l'homme. Bull. Acad. Med. (Paris) 1925; 94: 943-952.
387. Diamond LS. Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*. Science 1961; 134: 336.

388. Sargeant PG, Williams JE, Grene JD. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1978; 72: 519–521.
389. Çetin ET, Anđ Ö, Töreci K. Tıbbi Parazitoloji. 4. Baskı. İstanbul: Yayın NO: 15 Bayda Basın Yayın Dağıtım; 1985: 50-67.
390. Ak M, Tanyüksel M, Dağcı H. Amebiasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M (editörler). Özcelin Tıbbi Parazitik Hastalıkları. 1. Baskı. Bornova-İzmir: Meta Basım; 2007: 279-307.
391. Markell EK, John D T, Krotoski WA, Markell and Voges Medical Parasitology. 8th ed. W.B. Saunders Company; 1999: 24-56.
392. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. 2. Baskı. Sivas: Es-Form Ofset Ltd.Şti. 2002: 34-43.
393. Yaşarol Ş. Medikal Parazitoloji. 2. Baskı. Bornova: Ege Üniversitesi Tıp Fak. Yay. No: 93; 1984: 115-142.
394. Wiser MF. *Entamoeba* and Amebiasis. Protozoa and Human Disease. 2010: 3146.
395. Lohia A. The cell cycle of *Entamoeba histolytica*. Molecular and cellular biochemistry 2003; 253: 217-222.
396. Katz M, Despammier DD, Gwadz RW. Parasitic diseases. Springer-Verlag, New York, N.Y. 1989.
397. Phillips SC, Mildvan D, William DC, Gelb AM, White MC. Sexual transmission of enteric protozoa and helminths in a venereal disease-clinic population. N. Engl. J. Med. 1981; 305: 603–606.
398. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Clinical parasitology. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa. 1984.
399. Walsh JA. Transmission of *Entamoeba histolytica* infection. In JI. Ravdin (editor), Amebiasis: human infection by *Entamoeba histolytica*. John Wiley & Sons, Inc, New York, N.Y. 1988: 106-119.

400. Clark CG, Espinosa Cantellano M, Bhattacharya A. *Entamoeba histolytica*: an overview of the biology of the organism. In JI. Ravdin (editor), Amebiasis. Imperial College Press, London, United Kingdom. 2000: 1-45.
401. Ivey M. Phylum Protozoa. In Sonnenwirth AC and Jarett L (editors), Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. The CV. Mosby Co, St. Louis, Mo. 1980: 2081-2093.
402. Rodriguez MA, Hidalgo ME, Sanchez T, Orozco E. Cloning and characterization of the *Entamoeba histolytica* pyruvate: ferredoxin oxidoreductase gene. Mol. Biochem. Parasitol. 1996; 78: 273-277.
403. McLaughlin J, Aley S. The biochemistry and functional morphology of the *Entamoeba*. J. Protozool. 1985; 32: 221-240.
404. Willhoeft U, Tannich E. The electrophoretic karyotype of *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol. 1999; 99: 41-53.
405. Padilla-Vaca F, Anaya-Velázquez F. Insights into *Entamoeba histolytica* virulence modulation. Infect. Disord. Drug Targets 2010; 10: 242.
406. Haque R, Huston CD, Hughes M. Amebiasis. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 1565.
407. Stanley SL. Amoebiasis. Lancet 2003; 361: 1025.
408. Haque R, Duggal P, Ali IM. Innate and acquired resistance to amebiasis in bangladeshi children. J. Infect. Dis. 2002; 186: 547.
409. Haque R, Mondal D, Duggal P. *Entamoeba histolytica* infection in children and protection from subsequent amebiasis. Infect. Immun. 2006; 74: 904.
410. Lejeune M, Rybicka JM, Chadee K. Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *Entamoeba histolytica*. Future Microbiol. 2009; 4: 105.
411. Peterson KM, Singh U, Petri WA. Enteric Amebiasis. In: Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice, 3rd ed, Guerrant R, Walker DH, Weller PF (editors), Saunders Elsevier, Philadelphia 2011: 614.

412. Salit IE, Khairnar K, Gough K, Pillai DRA. Possible cluster of sexually transmitted *Entamoeba histolytica*: genetic analysis of a highly virulent strain. Clin. Infect. Dis. 2009; 49: 346.
413. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology, 3rd ed. ASM Press, Washington, D.C. 1997.
414. Healy GR, Garcia LS. Intestinal and urogenital protozoa, In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC and Tenover RH (editors). Manual of clinical microbiology, 6th ed. ASM Press, Washington, D.C. 1995: 1204-1228.
415. Reed SL. Clinical manifestations and diagnosis. In JI Ravdin (editor). Amebiasis. Imperial College Press, London, United Kingdom. 2000: 113-126.
416. Gatti S, Swierczynski G, Robinson F, Anselmi F, Corrales J, Moreira J, et al. Amebic infections due to the *Entamoeba histolytica*-*Entamoeba dispar* complex: a study of the incidence in a remote rural area of Ecuador. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2002; 67: 123-127.
417. Jackson TF, Gathiram V, Simjee AE. Sero epidemiological study of antibody responses to the zymodemes of *Entamoeba histolytica*. Lancet i: 1985: 716-719.
418. Abd-Alla MD, Jackson TG, Ravdin JI. Serum IgM antibody response to the galactose-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1988; 59: 431-434.
419. Ohnishi K, Murata M, Okuzawa E. Symptomatic amebic colitis in a Japanese homosexual AIDS patient. Intern. Med. 1994; 33: 120-122.
420. Tanyuksel MH, Tachibana W, Petri WA. Amebiasis, an emerging disease. In Scheld WB, Craig WA and Hughes JM (editors). Emerging infections 5. ASM Press, Washington, D. C. 2001: 197-212.
421. Krogstad DJ, Spencer HC, Healy GR, Gleason NN, Sexton DJ, Herron CA. Amebiasis: epidemiologic studies in the United States, 1971-1974. Ann. Intern. Med. 1978; 88: 89-97.

422. Gathiram V, Jackson TF. A longitudinal study of asymptomatic carriers of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica*. S. Afr. Med. J. 1987; 72: 669–672.
423. Jackson TF. Epidemiology, In Ravdin JI (editor). Amebiasis. Imperial College Press, London, United Kingdom. 2000: 47-63.
424. Reed S L. Clinical manifestations and diagnosis. In Ravdin JI (editor). Amebiasis. Imperial College Press, London, United Kingdom. 2000: 113-126.
425. Markell EK, John DT, Krotoski WA. Lumen-dwelling protozoa, 8th ed. The W. B. Saunders Co, Philadelphia, Pa. 1999.
426. Haque R, Mollah NU, Ali IKM, Alam K, Eubanks A, Lysterly D, et al. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 3235–3239.
427. Haque R, Faruque ASG, Hahn P, Lysterly DM, PetriWA. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection in children in Bangladesh. J. Infect. Dis. 1997;175: 734–736.
428. Sakata T, Niwa Y, Goto H, Hirooka Y, Hayakawa T, Ohmiya N, Kobayashi S. Asymptomatic inflammatory bowel disease with special reference to ulcerative colitis in apparently healthy persons. Am. J. Gastroenterol. 2001; 96: 735–739.
429. Ravdin JI. *Entamoeba histolytica* (amebiasis). Mandell GL, Bennett JE and Dolin R(editors), Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, Inc, Philadelphia, Pa. 2000: 2798-2810.
430. Adams EB, MacLeod IN. Invasive amebiasis. II. Amebic liver abscess and its complications. Medicine 1977; 56: 325–334.
431. Johnson JL, Baird TV, Hulbert LM. Amebic liver abscess in infancy: case report and review. Clin. Infect. Dis. 1994; 19: 765– 767.
432. Maltz G, Knauer CM. Amebic liver abscess: a 15-year experience. Am. J. Gastroenterol. 1991; 86: 704–710.

433. Ozbay BY, Cesur E, Kirimi I, Yalcinkaya S, Arslan I, Yilmaz H. The changing picture of empyema in childhood and adulthood in the east of Anatolia. Eur. Respir. 1997; J. 10 (Suppl): 25.
434. Mayhew KM, Dundoo M, Dunne EF, Dwinnell BG, Stephens JK. Inguinal lymphadenitis caused by *Entamoeba histolytica*: case report and literature review. Mayo Clin. Proc. 2000; 75: 513–516.
435. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology, Philadelphia: Elsevier Mosby; 2005: 847-860.
436. Tanyüksel M, Petri WA. Laboratory diagnosis of amebiasis. Clin. Microbiol. Rev. 2003; 16 (4): 713-729.
437. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. Clin. Microbiol. Rev. 2007; 20: 511- 532.
438. Kaplan RL. Microscopic examination of fecal specimens: Permanent stained smear (Trichrome). In: Isenberg HD (editor). Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM Press, Washington D.C. 1992: 61-73.
439. Haque R, Petri WA. Diagnosis of amebiasis in Bangladesh. Arch. Med. Res. 2006; 37: 273-276.
440. Bercu TE, Petri WA, Behm JW. Amebic colitis: new insights into pathogenesis and treatment. Curr. Gastroenterol. Rep. 2007; 9: 429.
441. Drugs for Parasitic Infections, 3rd ed, The Medical Letter, New Rochelle, NY. 2013.
442. Misra NP, Gupta RCA. Comparison of a short course of single daily dosage therapy of tinidazole with metronidazole in intestinal amoebiasis. J. Int. Med. Res. 1977; 5: 434.
443. Houpt E, Hung CC. *Entamoeba histolytica* (Amebiasis). Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases, 9th ed, Magill AJ, Ryan ET, Solomon T, Hill DR (editors), Saunders, Philadelphia 2012: 659.
444. Appleton H, Higgins PG. Viruses and gastroenteritis in infants. Lancet : 1975: 1297.

445. Madeley CR, Cosgrove BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 6: 1975: 451–452.
446. Madeley CR. Epidemiology of gut viruses. Farthing CF (editor), *Viruses and the gut*. Smith, Kline & French Laboratories Ltd. Welwyn Garden City, Hertfordshire, United Kingdom. 1989: 5-15.
447. Monroe SS, Jiang B, Stine SE, Koopmans M, Glass RI. Subgenomic RNA sequence of human *astrovirus* supports classification of *Astroviridae* as a new family of RNA viruses. *J. Virol.* 1993; 67: 3611–3614.
448. Monroe SS, Carter MJ, Herrmann JE, Kurtz JB, Matsui SM. *Astroviridae*. Murphy FA, Bishop DHL, Ghabrail SA, Jarvis AW, Martielli GP, Mayo MA, et al (editors). *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer-Verlag, Vienna, Austria. 1995: 364-384.
449. Finkbeiner SR, Kirkwood CD, Wang D. Complete genome sequence of a highly divergent *astrovirus* isolated from a child with acute diarrhea. *Virol. J.* 2008; 5: 117.
450. Risco C, Carrascosa JL, Pedregosa AM, Humphrey CD, SanchezFauquier A. Ultrastructure of human *astrovirus* serotype 2. *J. Gen. Virol.* 1995; 76: 2075–2080.
451. Fuentes C, Bosch A, Pinto RM, Guix S. Identification of human *astrovirus* genome-linked protein (VPg) essential for virus infectivity. *J. Virol.* 2012; 86: 10070 –10078.
452. Willcocks MM, Carter MJ. Identification and sequence determination of the capsid protein gene of human *astrovirus* serotype 1. *FEMS Microbiol. Lett.* 1993; 114: 1–7.
453. Firth A, Atkins J. Candidates in *astroviruses*, *seadornaviruses*, *cytorhabdoviruses*, and *coronaviruses* for 1 frame overlapping genes accessed by leaky scanning. *Virol. J.* 2010; 7: 17.
454. Mendez E, Aguirre-Crespo G, Zavala G, Arias CF. Association of the *astrovirus* structural protein VP90 with membranes plays a role in virus morphogenesis. *J. Virol.* 2007; 81: 10649 –10658.

455. Banos-Lara MR, Mendez E. Role of individual caspases induced by *astrovirus* on the processing of its structural protein and its release from the cell through a non-lytic mechanism. *Virology* 2010; 401: 322–332.
456. Guix S, Caballero S, Bosch A, Pinto RM. C-terminal nsP1a protein of human *astrovirus* colocalizes with the endoplasmic reticulum and viral RNA. *J. Virol.* 2004; 78: 13627–13636.
457. Mendez E, Salas-Ocampo E, Arias CF. Caspases mediate processing of the capsid precursor and cell release of human *astroviruses*. *J. Virol.* 2004; 78: 8601–8608.
458. Brinker JP, Blacklow NR, Herrmann JE. *Humanastrovirus* isolation and propagation in multiple cell lines. *Arch. Virol.* 2000; 145 (9): 1847-1856.
459. Dong J, Dong L, Mendez E, Tao Y. Crystal structure of the *humanastrovirus* capsid spike. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108 (31): 12681-12686.
460. Mendez E, Munoz-Yanez C, Sanchez-SanMartin C, Aguirre-Crespo G, Banos-Lara Mdel R, Gutierrez M, et al. Characterization of human *astrovirus* cell entry. *J. Virol.* 2014; 88 (5): 2452-2460.
461. Good fellow I, Chaudhry Y, Gioldasi I, Gerondopoulos A, Natoni A, Labrie L, et al. Calicivirus translation initiation requires an interaction between VPg and eIF4E. *EMBO Rep.* 2005; 6 (10): 968-972.
462. Monroe SS, Stine SE, Gorelkin L, Herrmann JE, Blacklow NR, Glass RI. Temporal synthesis of proteins and RNAs during *humanastrovirus* infection of cultured cells. *J. Virol.* 1991; 65 (2): 641-648.
463. Gray EW, Angus KW, Snodgrass DR. Ultra structure of the small intestine in *astrovirus*-infected lambs. *J. Gen. Virol.* 1980; 49 (1): 71-82.
464. Bosch A, Pinto RM, Guix S. Human *astroviruses*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 4: 27: 1048-1074.
465. Hodges K, Gill R. Infectious diarrhea: cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes* 2010; 1: 4 –21.

466. Viswanathan VK, Hodges K, Hecht G. Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhoea. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009; 7: 110–119.
467. Sajewicz-Krukowska J, Domanska-Blicharz K. Nearly full-length genome sequence of anovel *astrovirus* isolated from chickens with ‘whitechicks’ condition. *Arch. Virol.* 2016; 9: 161: 2581-2587.
468. Donelli G, Superti F, Tinari A, Marziano ML. Mechanism of *astrovirus* entry into Graham 293 cells. *J. Med. Virol.* 1992; 38 (4): 271-277.
469. Midthun K, Greenberg HB, Kurtz JB, Gary GW, Lin FY, Kapikian AZ. Characterization and seroepidemiology of a type 5 *astrovirus* associated with an outbreak of gastroenteritis in Marin County, California. *J.Clin. Microbiol.* 1993; 31: 955–962.
470. Bosch A. Human viruses in water, 1st ed. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 2007.
471. WHO Guidelines for drinking-water quality, 3rd ed, World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2004: 1: 515.
472. Abad FX, Pinto RM, Villena C, Gajardo R, Bosch A. *Astrovirus* survival in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63: 3119–3122.
473. Mendez E, Aguirre-Crespo G, Zavala G, Arias CF. Association of the *astrovirus* structural protein VP90 with membranes plays arole in virüs morphogenesis. *J. Virol.* 2007; 19: 81: 10649-10658.
474. Todd EC, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. 2. Description of outbreaks by size, severity, and settings. *J. Food Prot.* 2007; 70: 1975–1993.
475. Shastri S, Doane AM, Gonzales J, Upadhyayula U, Bass DM. Prevalence of *astroviruses* in a children’s hospital. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 2571–2574.
476. Giordano MO, Martinez LC, Rinaldi D, Espul C, Martinez N, Isa MB, et al. Diarrhea and enteric emerging viruses in HIV-infected patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 1999; 15: 1427–1432.

477. Oishi I, Yamazaki K, Kimoto T, Minekawa Y, Utagawa E, Yamazaki S, et al. A large outbreak of acute gastroenteritis associated with *astrovirus* among students and teachers in Osaka, Japan. *J. Infect. Dis.* 1994; 170: 439–443.
478. Mustafa H, Palombo EA, Bishop RF. Epidemiology of *astrovirus* infection in young children hospitalized with acute gastroenteritis in Melbourne, Australia, over a period of four consecutive years, 1995 to 1998. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1058–1062.
479. Maldonado Y, Cantwell M, Old M, Hill D, Sanchez ML, Logan L, et al. Population-based prevalence of symptomatic and asymptomatic *astrovirus* infection in rural Mayan infants. *J. Infect. Dis.* 1998; 178: 334–339.
480. Bosch A, Guix S, Pintó RM. Epidemiology of human astrovirus. Schultz-Cherry S. (editor), *Astrovirus research: essential ideas, everyday impacts, future directions*. Springer, New York, NY. 2013: 1-18.
481. Lee TW, Kurtz JB. Prevalence of human *astrovirus* serotypes in the Oxford region 1976-92, with evidence for two new serotypes. *Epidemiol. Infect.* 1994; 112: 187–193.
482. Pager CT, Steele AD. *Astrovirus*-associated diarrhea in South African adults. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 35: 1452–1453.
483. Koopmans MP, Bijen MH, Monroe SS, Vinje J. Age-stratified seroprevalence of neutralizing antibodies to *astrovirus* types 1 to 7 in humans in The Netherlands. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998; 5: 33–37.
484. Lee R, Lessler J, Rudolph K, Reich N, Perl T, Cummings D. Incubation periods of viral gastroenteritis: a systematic review. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 446.
485. Meyer CT, Bauer IK, Antonio M, Adeyemi M, Saha D, Oundo JO, et al. Prevalence of classic, MLB-clade and VA-clade *Astroviruses* in Kenya and The Gambia. *Virol. J.* 2015; 12 (1): 78.
486. Cortez V, Freiden P, Gu Z, Adderson E, Hayden R, Schultz Cherry S. Persistent Infections with Diverse Co Circulating Astroviruses in Pediatric Oncology Patients, Memphis, Tennessee, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 2: 23 : 288-290.

487. Caballero S, Guix S, ElSenousy WM, Calico I, Pinto RM, Bosch A. Persistent gastroenteritis in children infected with astrovirus: association with serotype-3strains. *J. Med. Virol.* 2003; 2: 71: 245-250.
488. Lin HC, Kao CL, Chang LY, Hsieh YC, Shao PL, Lee PI, et al. *Astrovirus* gastroenteritis in children in Taipei. *J. FormosMed. Assoc.* 2008; 4: 107: 295-303.
489. Herrmann JE, Nowak NA, Perron Henry DM, Hudson RW, Cubitt WD, Blacklow NR. Diagnosis of *astrovirus* gastroenteritis by antigen detection with monoclonal antibodies. *J. Infect. Dis.* 1990; 2: 161: 226-229.
490. Glass RI, Noel J, Mitchell D, Herrmann JE, Blacklow NR, Pickering LK, et al. The changing epidemiology of *astrovirus*-associated gastroenteritis: areview *Arch. Virol. Suppl.* 1996; 12: 287-300.
491. Ao YY, Yu JM, Li LL, Cao JY, Deng HY, Xin YY, et al. Diversenovel *astroviruses* identified in wild Himalayan marmots. *J. Gen.Virol.* 2017; 4: 98: 612-623.
492. Abad FX, Pinto RM, Villena C, Gajardo R, Bosch A. *Astrovirus* survival in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997; 63: 3119 –3122.
493. Caballero S, Guix S, Ribes E, Bosch A, Pinto RM. Structural requirements of *astrovirus* virus-like particles assembled in insect cells. *J. Virol.* 2004; 78: 13285–13292.
494. Bjorkholm M, Celsing F, Runarsson G, Waldenstrom J. Successful intravenous immunoglobulin therapy for severe and persistent *astrovirus* gastroenteritis after fludarabine treatment in a patient with Waldenstrom’s macroglobulinemia. *Int. J. Hematol.* 1995; 62: 117–120.
495. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.* 1972; 10: 1075–1081.
496. Zahorsky J. Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease. *Arch Pediatr.* 1929; 46: 391–395.
497. Adler JL, Zickl R. Winter vomiting disease. *J. Infect. Dis.* 1969; 119: 668 –673.

498. Goodgame R. *Norovirus* gastroenteritis. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2007; 9: 102–109.
499. 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: 1224–1231.
500. Duizer E, Schwab KJ, Neill FH, Atmar RL, Koopmans MP, Estes MK. Laboratory efforts to cultivate *noroviruses*. *J. Gen. Virol.* 2004; 85: 79-87.
501. Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, et al. Replication of human *noroviruses* in stem cell-derived human enteroids. *Science* 2016; 353 (6306): 1387-1393.
502. Greenberg HB, Valdesuso JR, Kalica AR, Wyatt RG, McAuliffe VJ, Kapikian AZ, et al. Proteins of *Norwalk* virus. *J. Virol.* 1981; 3: 37: 994-999.
503. Matsui SM, Kim JP, Greenberg HB, Su W, Sun Q, Johnson PC, et al. The isolation and characterization of a *Norwalk* virus-specific cDNA. *J. Clin. Invest.* 1991; 4: 87: 1456-1461.
504. Lefkowitz EJ. Taxonomy and Classification of Viruses. Jorgensen JH, Pfaller MA, (editors). *Manual of Clinical Microbiology* 11th ed. Washington DC: A. S. M. Press: 2015: 1400.
505. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
506. Altındış M. *Nörovirus*, medimagazin.com.tr/img/haber/norovirus.doc
507. Glass PJ, White LJ, Ball JM, Leparac-Goffart I, Hardy ME, Estes MK. *Norwalk* virüs open reading frame 3 encodes a minor structural protein. *J. Virol.* 2000; 74 (14): 6581- 6591.
508. Jones PW. *Norovirus* and *sapovirus*. In: Percival S, Chalmers R, Embrey M, Hunter P, Sellwood J, (editors). *In Microbiology of Waterborne Diseases*. California; Elsevier Academic Pres. 2004: 433-441.
509. Dolin R, Reichman RC, Roessner KD, Tralka TS, Schooley RT, Gary W, et al. Detection by immune electron microscopy of the Snow Mountain agent of acute viral gastroenteritis. *J Infect Dis* 1982; 146 (2): 184-189.

510. Vinjé J. Advances in laboratory methods for detection and typing of *norovirus*. J. Clin. Microbiol. 2015; 2: 53: 373-381.
511. Widdowson MA, Rockx B, Schepp R, van der Poel WH, Vinje J, van Duynhoven YT, et al. Detection of serum antibodies to bovine *norovirus* in veterinarians and the general population in the Netherlands. J. Med. Virol. 2005; 1: 76: 119-128.
512. Wu Z, Yang L, Ren X, He G, Zhang J, Yang J, et al. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. 2016; 3: 10: 609-620.
513. Green J, Vinje J, Gallimore CI, Koopmans M, Hale A, Brown DW, et al. Capsidprotein diversity among *Norwalk*-like viruses. Virus Genes 2000; 3: 20: 227-36.
514. Thorne LG, Goodfellow IG. *Norovirus* gene expression and replication. J. Gen. Virol. 2014; 95: 278-291.
515. Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, et al. *Norwalk* virus: how infectious is it? J. Med. Virol. 2008; 80 (8): 1468-1476.
516. Patel MM, Halla AJ, Jan V, Parashar UD. *Noroviruses*: A comprehensive review. J. Clin. Virol. 2009; 44: 1-8.
517. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. *Noroviruses*: Agents in Outbreaks of Acute Gastroenteritis. Disast. Manag. Resp. 2004; 2 (1): 4-9.
518. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to *Norwalk* virus infection. Nat. Med. 2003; 5: 9: 548-553.
519. Huang P, Farkas T, Zhong W, Tan M, Thornton S, Morrow AL, et al. Norovirus and histo-blood group antigens: demonstration of a wide spectrum of strain specificities and classification of two major binding groups among multiple binding patterns. J. Virol. 2005; 11: 79: 6714- 6722.
520. Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, et al. *Norwalk* virus: how infectious is it? J. Med. Virol. 2008; 8: 80: 1468-1476.

521. Hutson AM, Atmar RL, Estes MK. *Norovirus* disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends Microbiol.* 2004; 12: 279-286.
522. Bernstein DI, McNeal MM, Schiff GM, Ward RL. Induction and persistence of local *rotavirus* antibodies in relation to serum antibodies. *J. Med. Virol.* 1989; 2: 28: 90-95.
523. Parrino TA, Schreiber DS, Trier JS, Kapikian AZ, Blacklow NR. Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. *New Eng. J. Med.* 1977; 297 (2): 86-89.
524. Rha B, Burrer S, Park S, Trivedi T, Parashar UD, Lopman BA. Emergency department visit data for rapid detection and monitoring of *norovirus* activity, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19: 1214–1221.
525. Vega E, Barclay L, Gregoricus N, Shirley SH, Lee D, Vinje J. Genotypic and epidemiologic trends of *norovirus* outbreaks in the United States, 2009 to 2013. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52: 147–155.
526. Heijne JC, Teunis P, Morroy G, Wijkman C, Oostveen S, Duizer E, et al. Enhanced hygiene measures and *norovirus* transmission during an outbreak. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15: 24–30.
527. Kirking HL, Cortes J, Burrer S, Hall AJ, Cohen NJ, Lipman H, et al. Likely transmission of *norovirus* on an airplane, October 2008. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 1216–1221.
528. Matthews JE, Dickey BW, Miller RD, Felzer JR, Dawson BP, Lee AS, et al. The epidemiology of published *norovirus* outbreaks: a review of risk factors associated with attack rate and genogroup. *Epidemiol Infect.* 2012; 140: 1161–1172.
529. Jeong AY, Jeong HS, Lee JS, Park YC, Lee SH, Hwang IG, et al. Occurrence of *norovirus* infections in asymptomatic food handlers in South Korea. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: 598–600.
530. Schwartz M, Gluck M, Koon S. *Norovirus* gastroenteritis after fecal microbiota transplantation for treatment of *Clostridium difficile* infection despite asymptomatic donors and lack of sick contacts. *Am. J. Gastroenterol.* 2013; 108: 1367

531. Treanor JJ, Dolin R. Norwalk Virus and Other *Caliciviruses*. Mandell GL, Bennett JE (editors). Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Vol. 2. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 1949-1956.
532. Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinje J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, et al. Natural history of human *calicivirus* infection: A prospective cohort study. Clin. Infect. Dis. 2002; 35: 246-253.
533. Kaplan JE, Feldman R, Campbell DS, Lookabaugh C, Gary GW. The frequency of a *Norwalk*-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. Am. J. Public Health 1982; 72: 1329-1332.
534. Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998-2000. Clin. Infect. Dis. 2006; 42: 964-969.
535. Herrmann JE, Kent GP, Nowak NA, Brondum J, Blacklow NR. Antigen detection in the diagnosis of *Norwalk* virus gastroenteritis. J. Infect. Dis. 1986; 154: 547-548.
536. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. *Norovirus*. Clin. Microbiol. Rev. 2015; 28: 134-164.
537. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, Vennema H, Sánchez-Fauquier A, Schreier E, et al. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting *norovirus* antigen in fecal samples. Clin Vaccine Immunol 2007; 14: 1349-1355.
538. Costantini V, Grenz L, Fritzinger A, Lewis D, Biggs C, Hale A, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of Ideia *Norovirus* assay for routine screening of human *norovirus*. J Clin Microbiol 2010; 48: 2770-2778.
539. Ambert-Balay K, Pothier P. Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of *norovirus* in faecal samples. J Clin Virol 2013; 56: 194-198.
540. Zhang L, Peng Y, Jiang N, Shi L, Lin J, Wu P, et al. Preparation and Evaluation of Combined Detection of *Norovirus* GI and GII: An Innovative Fluorescent Particles Test Strip. Biomed Res Int 2018; 24: 7862467.

541. De Leon R, Matsui SM, Baric RS, Herrmann JE, Blacklow NR, Greenberg HB, et al. Detection of *Norwalk* virus in stool specimens by reverse transcriptase polymerase chain reaction and nonradioactive oligoprobes. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 12: 30: 3151-3157.
542. Ando T, Monroe SS, Gentsch JR, Jin Q, Lewis DC, Glass RI. Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses (*Norwalk*-like viruses) by reverse transcription-PCR and southern hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 1: 33: 64-71.
543. Jiang X, Huang PW, Zhong WM, Farkas T, Cubitt DW, Matson DO. Design and evaluation of a primer pair that detects both *Norwalk*- and *Sapporo*-like *caliciviruses* by RT-PCR. *J Virol Methods* 1999; 83: 145-154.
544. Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, et al. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 *Norwalk*-like viruses. *Virology* 2002; 2: 299: 225-239.
545. Richards GP, Watson MA, Kingsley DHA. SYBR green, real-time RT-PCR method to detect and quantitate *Norwalk virus* in stools. *J. Virol. Methods.* 2004; 1: 116: 63-70.
546. Kele B, Lengyel G, Deak J. Comparison of an ELISA and two reverse transcription polymerase chain reaction methods for *norovirus* detection. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 4: 70: 475-478.
547. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2003; 9: 247-262.
548. Lopman B, Vennema H, Kohli E, Pothier P, Sanchez A, Negredo A, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new *norovirus* variant *Lancet.* 2004; 363: 682-688.
549. Reintjes R, Thelen M, Reiche R, Csoha'n A. Infectious Diseases Benchmarking national surveillance systems: a new tool for the comparison of communicable disease surveillance and control in Europe. *Eur. J. Public Health* 2007; 17 (4): 375-380.

550. Keswick BH, Satterwhite TK, Johnson PC. Inactivation of *Norwalk virus* in drinking water by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.* 1985; 50: 261-264.
551. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. *Noroviruses: Agents in Outbreaks of Acute Gastroenteritis.* *Disast. Manag. Resp.* 2004; 2 (1): 4-9.
552. Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1953; 84: 570-573.
553. Hilleman MR, Werner JH. Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1954; 85: 183-188.
554. Jawetz E, Kimura S, Nicholas AN. New type of APC virus from epidemic keratoconjunctivitis. *Science* 1955; 122: 1190-1191.
555. Altındış M. “*Rotavirus* Enfeksiyonları ve Epidemiyolojisi” *TMC Mikrobiyoloji Haber Dergisi* 2006; 3: 8–10.
556. Çolak M, Bozdayı G, Altay A, Yalaki Z, Ahmed K, Özkan S. Detection and molecular characterisation of *adenovirus* in children under 5 years old with diarrhoea. *Turk. J. Med. Sci.* 2017; 47: 1463-1471.
557. Lu X, Erdman DD. Molecular typing of human *adenoviruses* by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Arch. Virol.* 2006; 8: 151: 1587-1602.
558. Lynch JP, Kajon AE. *Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes and Advances in Treatment and Prevention.* *Semin. Respir. CritCare Med.* 2016; 4: 37: 586.
559. Kajon AE, Dickson LM, Metzgar D, Houngh HS, Lee V, Tan BH. Outbreak of febrile respiratory illness associated with *adenovirus* 11a infection in a Singapore military training cAMP. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 4: 48: 1438-1441.
560. Lynch JP, Fishbein M, Echavarria M. *Adenovirus.* *Semin Respir Crit Care Med.* 2011; 4: 32: 494–511.

561. Chiba S, Nakata S, Nakamura I, Taniguchi K, Urasawa S, Fujinaga K, Nakao T. Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 *adenovirus*. *Lancet*. 1983; 2 (8356): 954–957.
562. Shimizu H, Phan TG, Nishimura S, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. An outbreak of *adenovirus* serotype 41 infection in infants and children with acute gastroenteritis in Maizuru City, Japan. *Infect Genet Evol*. 2007; 2: 7: 279–284.
563. Li L, Phan TG, Nguyen TA, Kim KS, Seo JK, Shimizu H, et al. Molecular epidemiology of adenovirus infection among pediatric population with diarrhea in Asia; 2005.
564. Moyo SJ, Hanevik K, Blomberg B, Kommedal O, Nordbø SA, Maselle S, et al. Prevalence and molecular characterisation of human *adenovirus* in diarrhoeic children in Tanzania; a case control study. *BMC Infect Dis*. 2014; 1: 14: 1–9.
565. Dey SK, Shimizu H, Phan TG, Hayakawa Y, Islam A, Salim AFM, et al. Molecular epidemiology of *adenovirüs* infection among infants and children with acute gastroenteritis in Dhaka City, Bangladesh. *Infect. Genet. Evol*. 2009; 4: 9: 518–522.
566. Walker CL, Rudan I, Liu L, Nair H, Theodoratou E, Bhutta ZA, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. *Lancet*. 2013; 381 (9875): 1405–1416.
567. Russell WC. Update on *adenovirus* and its vectors. *Journal GeneVirology*, 2000; 81: 2573-2604.
568. Nava M. *Adenovirus* small e1a regulates host cell transcription. Doctoral dissertation, University of California, Los Angeles. 2015.
569. Ustaçelebi Ş. *Adenovirüsler*. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 3. Baskı 2. Cilt. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 2008: 1696-1700.
570. Çolak M. 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Çeşitli Yöntemlerle *Adenovirüs* Varlığının Gösterilmesi Ve *Adenovirüs* 40/41 Dışındaki Gastroenterit Etkeni Serotiplerin DNA Dizi Analizi İle Belirlenmesi, Genotip Tayini Ve Filogenetik Analizi. Ankara. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, 2015.

571. Langley JM. *Adenoviruses*. *Pediatr. Review*, 2005; 7: 26: 244-249.
572. Russell KL, Broderick MP, Franklin SE. Transmission dynamics and prospective environmental sampling of *adenovirus* in a military recruit setting. *J Infect Dis* 2006; 194: 877.
573. Veltrop-Duits LA, van Vreeswijk T, Heemskerk B. High titers of pre-existing *adenovirus* serotype-specific neutralizing antibodies in the host predict viral reactivation after allogeneic stem cell transplantation in children. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1405.
574. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Acute respiratory disease associated with *adenovirus* serotype 14 four states, 2006-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2007; 56: 1181.
575. Foy HM, Cooney MK, Hatlen JB. *Adenovirus* type 3 epidemic associated with intermittent chlorination of a swimming pool. *Arch Environ Health* 1968; 17: 795.
576. Binder AM, Biggs HM, Haynes AK. Human *Adenovirus* Surveillance - United States, 2003-2016. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep*. 2017; 66: 1039.
577. Butel J. *Adenoviruses*. In: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA (editors). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 26th Edition. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc. 2013: 457- 466.
578. Echavarria M. *Adenoviruses* in immunocompromised hosts. *Clinic Microbiology Rewiev* 2008; 4: 21: 704-715.
579. Tebruegge M, Curtis N. *Adenovirus*: an overview for pediatric infectious diseases specialists. *Pediatric Infection Disease J*, 2012; 6: 31: 626–627.
580. Fox JP, Hall CE, Cooney MK. The Seattle Virus Watch. VII. Observations of *adenovirus* infections. *Am. J. Epidemiol.* 1977; 105: 362.
581. Foy HM, Cooney MK, Hatlen JB. *Adenovirus* type 3 epidemic associated with intermittent chlorination of a swimming pool. *Arch Environ Health* 1968; 17: 795.
582. Birenbaum E, Linder N, Varsano N. *Adenovirus* type 8 conjunctivitis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Arch. Dis. Child.* 1993; 68: 610.

583. Dingle JH, Langmuir AD. Epidemiology of acute, respiratory disease in military recruits. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968; 97: 1.
584. Montone KT, Furth EE, Pietra GG, Gupta PK. Neonatal *adenovirus* infection: a case report with in situ hybridization confirmation of ascending intrauterine infection. *Diagn. Cytopathol.* 1995; 12: 341.
585. Osamura T, Mizuta R, Yoshioka H, Fushiki S. Isolation of *adenovirus* type 11 from the brain of a neonate with pneumonia and encephalitis. *Eur. J. Pediatr.* 1993; 152: 496.
586. Koneru B, Atchison R, Jaffe R. Serological studies of adenoviral hepatitis following pediatric liver transplantation. *Transplant Proc.* 1990; 22: 1547.
587. Mitchell LS, Taylor B, Reimels W. *Adenovirus* 7a: a community-acquired outbreak in a children's hospital. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2000; 19: 996.
588. Gray GC, McCarthy T, Lebeck MG. Genotype prevalence and risk factors for severe clinical *adenovirus* infection, United States 2004-2006. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45: 1120.
589. Louie JK, Kajon AE, Holodniy M. Severe pneumonia due to *adenovirus* serotype 14: a new respiratory threat? *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46: 421.
590. Edwards KM, Thompson J, Paolini J, Wright PF. *Adenovirus* infections in young children. *Pediatrics* 1985; 76: 420.
591. Chuang Yu, Chiu CH, Wong KS. Severe *adenovirus* infection in children. *J Microbiol. Immunol. Infect.* 2003; 36: 37.
592. Self WH, Williams DJ, Zhu Y. Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2016; 213: 584.
593. Wadell G, Varsányi TM, Lord A, Sutton RN. Epidemic outbreaks of *adenovirus* 7 with special reference to the pathogenicity of adenovirus genome type 7b. *Am. J. Epidemiol.* 1980; 112: 619.

594. Lessa FC, Gould PL, Pascoe N. Health care transmission of a newly emergent *adenovirus* serotype in health care personnel at a military hospital in Texas, 2007. *J. Infect. Dis.* 2009; 200: 1759.
595. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Adenovirus*-associated epidemic keratoconjunctivitis outbreaks four states, 2008-2010. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 2013; 62: 637.
596. Uhnoo I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. Importance of enteric *adenoviruses* 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 20: 365.
597. Krajden M, Brown M, Petrsek A, Middleton PJ. Clinical features of *adenovirus* enteritis: a review of 127 cases. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1990; 9: 636.
598. Bines JE, Liem NT, Justice FA. Risk factors for intussusception in infants in Vietnam and Australia: *adenovirus* implicated, but not *rotavirus*. *J. Pediatr.* 2006; 149: 452.
599. South MA, Dolen J, Beach DK, Mirkovic RR. Fatal *adenovirus* hepatic necrosis in severe combined immune deficiency. *Pediatr Infect Dis* 1982; 1: 416.
600. Ronan BA, Agrwal N, Carey EJ. Fulminant hepatitis due to human *adenovirus*. *Infection* 2014; 42: 105.
601. Mufson MA, Belshe RB. A review of *adenoviruses* in the etiology of acute hemorrhagic cystitis. *J Urol* 1976; 115: 191.
602. Swenson PD, Lowens MS, Celum CL, Hierholzer JC. *Adenovirus* types 2, 8, and 37 associated with genital infections in patients attending a sexually transmitted disease clinic. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 278.
603. Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C. *Adenovirus* is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1325.
604. Frange P, Peffault de Latour R, Arnaud C. Adenoviral infection presenting as an isolated central nervous system disease without detectable viremia in two children after stem cell transplantation. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49: 2361.

605. Ison MG. *Adenovirus* infections in transplant recipients. Clin. Infect. Dis. 2006; 43: 331.
606. Bowles NE, Ni J, Kearney DL. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction evidence of *adenovirus* as a common cause of myocarditis in children and adults. J Am. Coll. Cardiol. 2003; 42: 466.
607. Wright J, Couchonnal G, Hodges GR. *Adenovirus* type 21 infection. Occurrence with pneumonia, rhabdomyolysis, and myoglobinuria in an adult. JAMA 1979; 241: 2420.
608. Maddox A, Francis N, Moss J. *Adenovirus* infection of the large bowel in HIV positive patients. J Clin Pathol 1992; 45: 684.
609. Wold WSM, Horwitz MS. *Adenoviruses*. In: Knipe DM, Howley PM (editors). Fields Virology, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 2395-2436.
610. Shetty AK, Treynor E, Hill DW. Comparison of conventional viral cultures with direct fluorescent antibody stains for diagnosis of community-acquired respiratory virus infections in hospitalized children. Pediatr Infect Dis J 2003; 22: 789-794.
611. Echavarria M, Sanchez JL, Kolavic-Gray SA. Rapid detection of *adenovirus* in throat swab specimens by PCR during respiratory disease outbreaks among military recruits. J Clin Microbiol 2003. 41: 810-812.
612. Heemskerk B, Veltrop-Duits LA, van Vreeswijk T. Extensive cross-reactivity of CD4+ *adenovirus*-specific T cells: implications for immunotherapy and gene therapy. J. Viro. 2003; 77: 6562-6566.
613. Kinchington PR, Romanowski EG, Jerold Gordon Y. Prospects for *adenovirus* antivirals. J. Antimicrob. Chemother 2005; 55: 424-429.
614. Kitabayashi A, Hirokawa M, Kuroki J. Successful vidarabine therapy for *adenovirus* type associated acute hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplantation. Bone Marrow Transpl 1994; 14: 853-854.

615. Yusuf U, Hale GA, Carr J. Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Transplantation* 2006; 81: 1398-1404.
616. Bishop R. Discovery of rotavirus: Implications for Child health. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2009; 24 (3): 81-85.
617. Entes MK, Kapikian AZ. *Virology*. Hong Kong. 2007: 1917 – 1952.
618. Gentsch JR. Serotype diversity and reassortment between human and animal *rotavirus* strains: implications for *rotavirus* vaccine programs. *J Infect Dis*. 2005; 192 (Suppl. 1): 146–159.
619. Nakagomi O, Nakagomi T. Genetic diversity and similarity among mammalian *rotaviruses* in relation to interspecies transmission of rotavirus. *Arch. Virol*. 1991; 120: 43–55.
620. Martella V. Zoonotic aspects of *rotaviruses*. *Vet Microbiol*. 2010; 140: 246–255.
621. Lundgren O, Svensson L. Pathogenesis of *rotavirus* diarrhea. *Microbes Infect*. 2001; 3: 1145–1156.
622. Saxena K. Human intestinal enteroids: a new model to study human *rotavirus* infection, host restriction, and pathophysiology. *J. Virol*. 2015; 90: 43–56.
623. Lopez S, Arias CF. Multistep entry of *rotavirus* into cells: a Versaillesque dance. *Trends Microbiol*. 2004; 12: 271–278.
624. Arias CF. *Rotavirus* entry: a deep journey into the cell with several exits. *J. Virol*. 2015; 89: 890–893.
625. Ramani S. The VP8* domain of neonatal *rotavirus* strain G10P[11] binds to type II precursor glycans. *J. Virol*. 2013; 87: 7255–7264.
626. Ramani S. Diversity in *rotavirus*-host glycan interactions: a “sweet” spectrum. *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol*. 2016; 2: 263–273.
627. Diaz-Salinas MA. The spike protein VP4 defines the endocytic pathway used by *rotavirus* to enter MA104 cells. *J Virol*. 2013; 87: 1658–1663.

628. Hyser JM. *Rotavirus* disrupts calcium homeostasis by NSP4 viroporin activity. *mBio*. 2010; 1: 265–310.
629. Pham T. The *rotavirus* NSP4 viroporin domain is a calcium-conducting ion channel. *Sci Rep*. 2017; 7: 437-487.
630. Rota S, Fidan I. Noninflamatuvar Diyarelerin Patogenezi. *Türk Mikrobiyol. Cem*, 2007: 234-241.
631. Ramig RF. Pathogenesis of intestinal and systemic *rotavirus* infection. *Journal of Virology*, 2004: 10213-10220.
632. Homaïdan FR, Torres A, Donowitz M, Sharp GWG. Electrolyte transport in piglets infected with transmissible gastroenteritis virus. *Gastroenterology*. 1991: 895–901.
633. Lundgren OL. Pathogenesis of *rotavirus* diarrhea. *Microbes And Infection*. 2001: 1145-1156.
634. Molla A, Sarker SA, Khatun M. Whole-gut transit time and its relationship to absorption of macronutrients during diarrhoea and after recovery. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1983: 537-543.
635. Grimwood K, Buttery JP. Clinical update: *rotavirus* gastroenteritis and its prevention. *Lancet* 2007; 370: 302.
636. Rha B, Tate JE, Payne DC. Effectiveness and impact of *rotavirus* vaccines in the United States 2006-2012. *Expert Rev. Vaccines* 2014; 13: 365.
637. Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG. Human *reovirus*-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *Engl. J. Med*. 1976; 294: 965.
638. Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *N Engl. J. Med*. 1991; 325: 252.
639. Richardson S, Grimwood K, Gorrell R. Extended excretion of *rotavirus* after severe diarrhoea in young children. *Lancet* 1998; 351: 1844.

640. LeBaron CW, Lew J, Glass RI. Annual *rotavirus* epidemic patterns in North America. Results of a 5-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States. *Rotavirus* Study Group. *JAMA* 1990; 264: 983.
641. Konno T, Suzuki H, Imai A. A long-term survey of *rotavirus* infection in Japanese children with acute gastroenteritis. *J. Infect. Dis.* 1978; 138: 569.
642. Johansen K, Hedlund KO, Zwegberg-Wirgart B, Bennet R. Complications attributable to *rotavirus*-induced diarrhoea in a Swedish paediatric population: report from an 11-year surveillance. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 958.
643. Gurwith M, Wenman W, Hinde DA prospective study of *rotavirus* infection in infants and young children. *J. Infect. Dis.* 1981; 144: 218.
644. Brandt CD, Kim HW, Rodriguez WJ. Simultaneous infections with different enteric and respiratory tract viruses. *J. Clin. Microbiol.* 1986; 23: 177.
645. de Vries LS, Bearden D. Neurologic complications of rotavirus in neonates: More common than we thought? *Neurology* 2015; 84: 13.
646. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD. Longitudinal study of *rotavirus* infection and gastroenteritis in families served by a pediatric medical practice: clinical and epidemiologic observations. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987; 6: 170.
647. Keswick BH, Blacklow NR, Cukor GC. Norwalk virus and *rotavirus* in travellers' diarrhoea in Mexico. *Lancet* 1982; 1: 109.
648. Marrie TJ, Lee SH, Faulkner RS. *Rotavirus* infection in a geriatric population. *Arch. Intern. Med.* 1982; 142: 313
649. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne outbreak of Group A *rotavirus* gastroenteritis among college students. District of Columbia, March-April 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2000; 49: 1131.
650. Echeverria P, Blacklow NR, Cukor GG. *Rotavirus* as a cause of severe gastroenteritis in adults. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18: 663.
651. Rayani A, Bode U, Habas E. Rotavirus infections in paediatric oncology patients: a matched-pairs analysis. *Scand J. Gastroenterol.* 2007; 42: 81.

652. Saulsbury FT, Winkelstein JA, Yolken RH. Chronic *rotavirus* infection in immunodeficiency. J. Pediatr. 1980; 61: 97.
653. Tallett S, MacKenzie C, Middleton P. Clinical, laboratory, and epidemiologic features of a viral gastroenteritis in infants and children. Pediatrics 1977; 60: 217.
654. Grimwood K, Coakley JC, Hudson IL. Serum aspartate aminotransferase levels after *rotavirus* gastroenteritis. J. Pediatr. 1988; 112: 597.
655. Caprioli A, Pezzella C, Morelli R. Enteropathogens associated with childhood diarrhea in Italy. The Italian Study Group on Gastrointestinal Infections. Pediatr. Infect. Dis. J. 1996; 15: 32-876.
656. Rotbart HA, Nelson WL, Glode MP. Neonatal *rotavirus*-associated necrotizing enterocolitis: case control study and prospective surveillance during an outbreak. J. Pediatr. 1988; 112: 87.
657. Sızmaz E, Satar M, Ozlü F. The coincidence of necrotizing enterocolitis and *rotavirus* infections and potential associations with cytokines. Can J Infect Dis. Med. Microbiol. 2012; 23: 103.
658. Mulcahy DL, Kamath KR, de Silva LM. A two-part study of the aetiological role of *rotavirus* in intussusception. J. Med. Virol. 1982; 9: 51.
659. Bobo L, Ojeh C, Chiu D. Lack of evidence for *Rotavirus* by polymerase chain reaction/enzyme immunoassay of hepatobiliary samples from children with biliary atresia. Pediatr. Res. 1997; 41: 229.
660. Lynch M, Lee B, Azimi P. *Rotavirus* and central nervous system symptoms: cause or contaminant? Case reports and review. Clin. Infect. Dis. 2001; 33: 932.
661. Bhardwaj A, Aggarwal V, Chakravarty A, Mittal SK. Does *Rotavirus* infection cause persistent diarrhoea in childhood? Trop Gastroenterol 1996; 17: 18.
662. Wolffs PF, Bruggeman CA, van Well GT, van Loo IH. Replacing traditional diagnostics of fecal viral pathogens by a comprehensive panel of real-time PCRs. J Clin Microbiol 2011; 49: 1926.

663. Champsaur H, Questiaux E, Prevot J. Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. J Infect Dis 1984; 149: 667.
664. Bernstein DI, Ward RL. Rotaviruses. In: Feigin RD, Cherry JD (editors). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th ed. Vol 2. Philadelphia, PA: Saunders; 2004: 2110–2133.
665. Bass ES, Pappano DA, Humiston SG. Rotavirus. Pediatr Rev. 2007; 28: 183-191.
666. Florez ID, Al-Khalifah R, Sierra JM. The effectiveness and safety of treatments used for acute diarrhea and acute gastroenteritis in children: protocol for a systematic review and network metaanalysis. Syst Rev. 2016; 5: 14. Published 2016 Jan 20. doi:10.1186/s13643-016-0186-8
667. Shabbir MA, Tang Y, Xu Z, Lin M, Cheng G, Dai M, et al. The involvement of the Cas9 gene in virulence of *Campylobacter jejuni*. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2018; 8.
668. Güney M, Başustaoglu AC. Gülhane askeri tıp akademisi eğitim hastanesi'nde akut bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin yeri ve bunların antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2010; 3: 40: 183– 192.
669. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC. Color Atlas and Textbook and Diagnostic Microbiology Chapter 20, Lipincott, 1997.
670. Black RE, Cousens S, Johnson HL. Global, regional and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. Lancet 2010; 375: 1969–1987.
671. Öngen B, Nazik H, Kaya I, Özkan E. 2003-2005 Yılları Arasında Dışkı Kültürlerinden İzole Edilen *Salmonella*, *Shigella* Suşları Ve Antibiyotik Duyarlılıkları: 3 Yıllık Sonuçların Değerlendirilmesi. 21. Ankem Klinikler Ve Tıp Bilimleri Kongresi, Beldibi, Kemer-Antalya, 04 - 08 Haziran 2006, Ankem Derg. 2006; 20: 15.
672. Özmert EN, İnce OT, Örün E. Clinical characteristics and antibiotic resistance of *Shigella* gastroenteritis in Ankara. Turkey between 2003 and 2009, and comparison

- with previous reports. International Journal of Infectious Diseases. 2011; 15: 849-853.
673. Çiftçi İH, Aktepe OC, Altındış M, Çetinkaya Z, Aşık G, Çalışkan K. *Shigella* Türlerinde Antimikrobiyal Direnç Değişimi: Sekiz Yıllık İzlem. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2010; 2: 40: 125-130.
674. Levent B, Sezen F, Kayalı Güleşen ve UEPLA Çalışma Grubu. Ulusal EnterikPatojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA): 2007-2008 Yıllarına Ait Suşların Değerlendirilmesi, Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2009; 2: 66: 11-12.
675. Bakıcı Z, Çakmaktepe S, Güney A. Bölgemizden soyutlanan *Salmonella* ve *Shigella* bakterileri ve antibiyotik duyarlılıkları. C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi. 2001; 3: 23: 141-144.
676. Keşli R, Bilgin H, Pirgon Ö, Feyzioğlu B, Güzelant A. Çocuklarda son üç yılda gaita örneklerinden izole edilen *Salmonella* ve *Shigella* suşlarının antimikrobik direncinin araştırılması (2008-2011). Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2012; 42: 66-72.
677. Gülmez D, Gür D, Hasçelik G, Güleşen R, Levent B. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (UEPLA) Dahil Olan Bir Üniversite Hastanesinin Deneyimleri: Dört yıllık *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* verileri. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2012; 3: 42: 85-92.
678. Ünlü Ö, Çiçek C, Filcan A, Şakru N, Tuğrul HM. Bir Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Gastroenterit Etkenlerinin Dağılımı: On üç aylık veriler. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2013; 4: 43: 149-154.
679. Tural Kara T, Özdemir H, Kurt F, Güriz H, Çiftçi E, Aysev AD, et al. Akut çocukluk çağı gastroenteritlerindeki *Salmonella-Shigella* sıklığı ve antibiyotik direnç durumları. J Pediatr Inf. 2015; 9: 102-107.
680. MJ. Blaser, Reller LB. *Campylobacter Enteriditis* New England Journal of Medicine, Mass Medical Soc. 1981: 305 (24).
681. Miller SL, Hohmann EL, Pegues DA. *Salmonella* Species Including Typhoid Fever. Mandell GL, Bennet JE (editors). Principles and Practice of Infectious Diseases. Dolin R 4th Edition Churchill Livingstone, Newyork 1995: 2013-2033.

682. Comparison of the BD MAX® Enteric Bacterial Panel assay with conventional diagnostic procedures in diarrheal stool samples L. Knabl, I. Grutsch & D. Orth-Höller European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases volume 35, 2016: 131–136.
683. European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2010. EFSA Journal, 2012; 3: 10: 2597.
684. Betigül Ö. Türkiye’de İshal Etkenleri. Ankem Derg. 2006: 20 (2): 122-134.
685. Gültekin A, Gökalp A, Bakıcı Z, Oğuz A, Sağnak G. Sivas Yöresinde İshal Etkenleri. İnfek. Derg. 1987: 1: 239-246.
686. Aktaş O, Tuncel E. Diyareli hastalarda *Campylobacter jejuni* Yönünden Bir Araştırma. Mikrobiyol. Bült. 1987: 21: 79-85.
687. Akgün Y, Üstünel E, Bolatlı T. Eskişehir Bölgesi’nde *Campylobacter jejuni*’nin Gastroenterit Etyolojisindeki Yeri. İnfek. Derg. 1989: 3: 365-373.
688. Aşçı Z, Kılıç S, Yılmaz M. Elazığ Yöresinde Diyareli Hastalarda *Campylobacter jejuni*’nin Yaygınlığı Üzerine Bir Araştırma. İnf. Derg. 1989: 3: 4: 511-518.
689. Özkan F, Günhan C. Gastro-enteritlerin *Campylobacter* Türleri Yönünden İncelenmesi. İnfek. Derg, 1994: 8: 127-130.
690. Öztürk R, Midilli K, Okyay K. Çocuk ve Erişkin Yaş Grubu Sürgün Olgularında *Campylobacter Jejuni* ve Sıklığının Araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg, 1994: 24: 42-45.
691. Yıldırım S, Fazlı A. Kayseri Yöresinde Bakteriyolojik Kültür İçin Gönderilen Dışkı Örneklerinde *Campylobacter*’lerin İzolasyon ve İdentifikasyonu, Enfeksiyon Derg 1998: 3: 12: 317-322.
692. Özen N, Kaleli İ, Şengül M, Akşit F. Akut Gastro enteritli Olgularda *Campylobacter* Sıklığının Araştırılması. Mikrobiyol. Bült. 1999: 33: 89-98.

693. Yılmaz A, Tuğrul H. Edirne’de İshal Etkenlerinin Arasında *Campylobacter* Türlerinin Yerinin ve Antimikrobiklere Duyarlıklarının Araştırılması. Turkish Journal of Infection, 2005; 1: 19: 53-59.
694. Yıldız Ç. Mersin İlinde Çocukluk Çağı Akut Gastroenteritlerinde *Campylobacter* Türlerinin Görülme Sıklığı, Uzmanlık Tezi, Mersin Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2011.
695. Neil A, Blake W, Buchan L. 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; 4: 52: 1222-1224.
696. Biswas J, Ali A, Rajput P, Smith D, Goldenberg D. A parallel diagnostic accuracy study of three molecular panels for the detection of bacterial gastroenteritis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis, 2014; 33: 2075– 2081.
697. Amar L, East L, Gray J, Iturriza M, Maclure A, McLauchlin J. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993–1996), Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis, 2007; 26: 311–323.
698. Mortensen J, 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; 9: 15: 1186-1297.
699. Ashman M, Hankin M, Klein E, Alexander E, Anderson A, Zhang C. Clinical Performance of the BD MAX Enteric Bacterial Panel For Rapid Detection of *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Campylobacter (coli and jejuni)*, and Shiga- Tokxin Producing *E.coli*. BD Diagnostics, Sparks, M. D. USA, 2015: 211-252.
700. Fred G, Abril M, Billon D, Tigne Y. Diarrhoea-causing agents in children aged less than five in Tunja, Colombia Rev. Salud pública 2006: 8.
701. Olesen B, Neimann J, Bottiger B. Etiology of Diarrhea in Young Children in Denmark: a CaseControl Stud. J. Clin. Microbiol. 2005; 8: 3636–3641.

702. Klein EJ, Boster DR, Stapp JR, Wells JG. Diarrhea Etiology in a Children's Hospital Emergency Department: A Prospective Cohort Study. Clin. Infect. Dis. 2006; 43: 807–813.
703. Scarlata F, Titone L, Li Vecchi V, Arena R, Bruno A, Merlino F, et al. *Campylobacter* enteritis in Western Sicily. Remarks on 35 cases. Infez. Med. 2004; 12 (4): 239-244.
704. Öngen B. Türkiye'de ishal etkenleri. ANKEM Derg. 2007; 1: 21: 37-41.
705. Köksal F. Bölgemizde görülen akut diyarelerdeki *Campylobacter jejuni*'nin rolü. Adana, Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi, 1984.
706. Kılıç B. Çocukluk Çağı Gastroenteritlerinde *Campylobacter jejuni* insidansının kültür ve ELİSA testi ile araştırılması. Adana, Uzmanlık tezi, 1992.
707. Feizabadi M, Dolatabadi S, Zali M. Isolation and Drug-Resistant Patterns of *Campylobacter* strains Cultured from Diarrheic Children in Tehran. Jpn. J.Infect. Dis, 2007; 60: 217-219.
708. Ergen EK, Akalın H, Yılmaz E, Sınırtas M, Alver O, Heper Y, et al. Nosocomial diarrhea and *Clostridium difficile* associated diarrhea in a Turkish University Hospital. Médecine et maladies infectieuses 2009; 39: 3 82–87.
709. Crobach MJT, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). Clin Microbiol Infect 2009; 15: 1053–1066.
710. Huang H, Weintraub A, Fang H, Nord CE. Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*, International Journal of Antimicrobial Agents 2009; 34: 516–522.
711. Bauer MP, Notermans DW, Van Benthem BHB, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet; 2011; 377: 63-73.

712. Altindis M, Usluer S, Ciftci, H, Tunc N, Cetinkaya Z, Aktepe OC. Investigation of the presence of *Clostridium difficile* in antibiotic associated diarrhea patients by culture and toxin detection methods, Mikrobiyol. Bul,2007: 41 (1): 29-37.
713. Büyükbaba Boral Ö. *Clostridium difficile* enfeksiyonu ön tanıli hastaların dışkı örneklerinde toksin A ve B'nin belirlenme sıklığı, Türk Mikrobiyol. Cem. Derg, 2002: 32: 220-224.
714. Deniz U, Ülger N, Aksu B, Karavuş M, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesinde Yatan ishaller Hastalardan izole Edilen *Clostridium difficile* Kökenlerinde Toksin Genlerinin Araştırılması, Mikrobiyol. Bul, 2011: 1: 45: 1-10.
715. Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. Clindamycin-associated colitis: a prospective study, Ann. Intern. Med, 1974: 4: 81: 429–433.
716. Larson HE, Price AB. Pseudomembranous colitis: presence of clostridial toxin, Lancet, 1977: 2: 1312–1314.
717. Selvaraju SB, Gripka M, Estes K, Nguyen A, Jackson MA, Selvarangan R. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* in pediatric stool samples: an evaluation of Quik Check Complete Antigen assay, BD GeneOhm C diff PCR, and ProGastro Cd PCR assays. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2011: 3: 71: 224-229.
718. Luna RA, Boyanton BL, Mehta S, Courtney EM, Webb CR, Revell PA, et al. Rapid stool-based diagnosis of *Clostridium difficile* infection by real-timePCR in a children's hospital. Journal of Clinical Microbiology 2011: 3: 49: 851-857.
719. Duleba K, Pawlowska M, Wietlicka-Piszc M. *Clostridium difficile* infection in children hospitalized due to diarrhea. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology 2014: 2: 33: 201-209.
720. Martirosian G, Popielskac J, Marczynskac M. Occurrence of *Clostridium difficile* in fecal samples of HIV-infected children in Poland. Anaerobe 2003: 9: 295–297.
721. Boral ÖB. *Clostridium difficile* İnfeksiyonu Ön Tanılı Hastaların Gaita Örneklerinde Toksin A ve B'nin Belirlenme Sıklığı. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2002: 32: 220-224.

722. Gateau C, Couturier J, Coia J, Barbut F. How to: diagnose infection caused by *Clostridium difficile* Clinical Microbiology and Infection Volume 24, Issue 5, May 2018: 463-468.
723. Kalpesh S, Sukhwani N, Nitin B, Senthur N, Suresh Kumar D, Ramasubramanian V, et al. Clinical Profile of *Clostridium Difficile* Associated Diarrhea: A study from Tertiary Care Centre of South India, DOI: <http://dx.doi.org/10.7869/tg.487>
724. Erdoğan H, Levent B, Erdoğan A, Güleşen R, Arslan H. Gastroenteritli olgularda verotoksijenik *Escherichia coli* O157:H7 insidansının araştırılması. Mikrobiyol. Bul. 2011; 3: 45: 519-525.
725. William F, Marshall MD, Carol A, McIlmansb S, Pauline KW, Yum S, et al. Results of a 6-Month Survey of Stool Cultures for *Escherichia coli* O157:H7 Mayo Clinic Proceedings Volume 65, Issue 6, June 1990: 787-792.
726. Alan A, Harris RL, Kaplan LJ, Goodman M, Doyle W, Landau JS, et al. Results of a Screening Method Used in a 12-Month Stool Survey for *Escherichia coli* O157: H7 The Journal of Infectious Diseases, Volume 152, Issue 4, October 1985: 775-777.
727. Taş E, Ardiç N. Akut gastroenteritli olgularda termofilik *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Rotavirus* Sıklığı. Klimik Dergisi 2004; 3: 17: 186-187.
728. Park CH, Vandel NM, Hixon DL. Rapid immunoassay for detection of *Escherichia coli* O157 directly from stool specimens. Journal Of Clinical Microbiology. 1996; 34: 988- 990.
729. Zarakolu P, Akbaş E, Levent B, Gözalan A. İshalli Çocuk Hastalardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlerin Dağılımı. Flora 1999; 3: 4: 190-194.
730. Aydoğan S, Sünbül M, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Esen Ş. Akut ishalli hastalarda *Escherichia coli* O157 ve *Aeromonas* türlerinin sıklığı. Mikrobiyol. Bült. 2001; 35: 525-530.
731. Taş E, Ardiç N. Akut Gastroenteritli Olgularda Termofilik *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Rotavirus* Sıklığı. Klimik Dergisi 2004; 3: 17: 186-190.

732. Ekşi F, Karslıgil T, Bayram A. Çocukluk Yaş Grubu İshallerinde *Escherichia Coli* O157:H7'nin Araştırılması. Van Tıp Dergisi. 2007; 1: 14: 15-18.
733. Yeniiz E, Öncül O, Çavuşlu Ş. İshalli hastaların dışkılarında *Escherichia coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Türkiye Klinikleri 1398 J Med Sci. 2009; 6: 29 .
734. Weinke T, Friedrich-Jänicke B, Hopp P, Janitschke K. Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica* in two high-risk groups: travelers returning from the tropics and male homosexuals. J Infect Dis 1990; 161:1029.
735. Magan~a-Garcia M, Arista-Viveros A. Cutaneous amebiasis in children. Pediatr. Dermatol. 1993; 10: 352–355.
736. Lysy JJ, Zimmerman Y, Sherman R, Ligumsky M. Crohn's colitis complicated by superimposed invasive amebic colitis. Am. J. Gastroenterol. 1991; 86: 1063–1065.
737. Sehgal D, Mittal V, Ramachandran S, Dhar SK, Bhattacharya A, Bhattacharya S. Nucleotide sequence organisation and analysis of the nuclear ribosomal DNA circle of the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol. 1994; 67: 205–214.
738. Kurt Ö, Demirel M, Ostan İ, Sevil NR, Mandiracioglu A, Tanyüksel M, et al. Investigation of the prevalence of amoebiasis in Izmir province and determination of *Entamoeba spp.* using PCR and enzyme immunoassay. New Microbiologica 2008; 31: 393-400.
739. Flecha MJ, Benavides CM, Tissiano G, Tesfamariam A, Cuadros J. Detection and molecular characterisation of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium spp.* and *Entamoeba spp.* among patients with gastrointestinal symptoms in Gambo Hospital Oromia Region, southern Ethiopia. Tropical Medicine and International Health 2015; 9: 20: 1213–1222.
740. Llewellyn S, Inpankaew T, Vaz Nery S, Gray DJ, Verweij JJ, Clements ACA, et al. Application of a multiplex quantitative PCR to assess prevalence and intensity of intestinal parasite infections in a controlled clinical trial. PLOS Neglected Tropical Diseases 2016; 28, doi: 10.1371 /journal. pntd. 0004380.

741. Van Lint P, Rossen JW, Vermeiren S, Ver Elst K, Weekx S, Van Schaeren J, et al. Detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp. And *Entamoeba histolytica* in clinical stool samples by using multiplex real-time PCR after automated DNA isolation. Acta Clinica Belgica 2014; 3: 68: 188-192.
742. Leiva B, Lebbad M, Winiecka-Krusnell J, Altamirano I, Tellez A, Linder E. Overdiagnosis of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Nicaragua: A microscopic, triage parasite panel and PCR study. Elsevier 2006; 37: 529-534.
743. Nazeer JT, Khalifa ES, Thien H, El-Sibaei MM, Abdel-Hamid MY, Tawfik RAS, et al. Use of multiplex real-time PCR for detection of common diarrhea causing protozoan parasites in Egypt. Parasitol Res. 2013; 112: 595-601.
744. Atas Ahmet Duran. "Sivas Cumhuriyet Universitesi Tıp Fakultesi Arastirma ve Uygulama Hastanesi'nde 2006-2018 Yillari Arasinda Saptanan Patojenik Bagirsak Parazitlerinin Dagilimi/The Distribution of Pathogenic Intestinal Parasites in Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine Research and Application Hospital between 2006-2018." Turkish Journal of Parasitology, vol. 44, no. 1, 2020: 25.
745. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 yılları sonuçları: 10 yıllık değerlendirme. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013; 2: 37: 97-101.
746. Ak M, Türk M, Güneş K. Giardiasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M (editörler). Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 22; İzmir: 2007: 323-344.
747. Aşçı Z, Seyrek A, Kizirgil A, Yılmaz M. Dışkı Örneklerinde *Giardia İntestinalis*'in Bulunması Üzerine Retrospektif Bir Çalışma. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1997; 2: 21: 133- 135.
748. Özçelik S, Değerli S. Türkiye'de *Giardiasis*. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1998; 3: 22 : 292-298.
749. Yentur Doni N, Zeyrek FY, Gürses G, Tümer S. *Giardia* ve *Cryptosporidium* tanısında direkt mikroskopi ve antijen tarama testlerinin karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013; 37: 169-173.

750. ten Hove R, Schuurman T, Kooistra M, Möller L, van Lieshout L, Verweij JJ. Detection of diarrhoea-causing protozoa in general practice patients in The Netherlands by multiplex real-time PCR. *Clin Microbiol Infect*, 2009; 13: 1001-1007.
751. Verweij JJ, Schinkel J, Laeijendecker D, van Rooyen MA, van Lieshout L, Polderman AM. Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Mol Cell Probes*, 2003; 5: 17: 223-225.
752. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Wallinga JA, Ruijs GJ, Bruins MJ, Verweij JJ . Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clin Microbiol Infect* , 2009; 15: 869-874
753. Almeida A, Pozio E, Cacciò SM. Genotyping of *Giardia duodenalis* cysts by new realtime PCR assays for detection of mixed infections in human samples. *Appl Environ Microbiol*, 2010; 6: 76 : 1895-1901.
754. Ramratnam B, Flanigan TP. *Cryptosporidiosis* in persons with HIV infection. *Postgraduate Medical Journal*, 1997; 73: 713-716.
755. Börekçi G, Otag F, Emekdas G. Mersin'de Bir Gecekondu Mahallesinde Yaşayan Ailelerde *Cryptosporidium* Prevelansı. *İnfeksiyon Dergisi*, 2005; 19: 39-46.
756. Koturoglu G, Bayram S, Kurugöl Z, Turgay N, Mutlubaş F. Akut İshalli Çocuklarda *Cryptosporidium* Sıklığı ve Risk Faktörleri. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler Dergisi*, 2004; 13: 1-19.
757. Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, 2000; 30: 1305-1322.
758. Pereira MD, Atwill ER, Barbosa AP, Silva SA, Garcia-Zapata MT. Intra-familial and extra-familial risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection among children hospitalized for diarrhea in Goiania, Goias, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2002; 66: 787-793.

759. Gatei W, Wamae CN, Mbae C, Waruru A, Mulinge E, Waithera T, et al. *Cryptosporidiosis*: prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2006; 75: 78-82.
760. Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, et al. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *The Journal of Infectious Diseases*, 2001; 183: 492-497.
761. Inungu JN, Morse AA, Gordon C. Risk Factors, Seasonality and Trends of *Cryptosporidiosis* Among Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000; 3: 62: 384–387.
762. Fathy MM, Abdelrazek NM, Hassan FA, El-Badry A. Molecular coprevalence of *Cryptosporidium* in Egyptian children and evaluation of three diagnostic methods. *Indian Pediatrics*, 2014; 51: 727-729.
763. Robinson P, Okhuysen PC, Chappell CL, Lewis DE, Shahab I, Janecki A, et al. Expression of tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta in jejunum of volunteers after experimental challenge with *Cryptosporidium parvum* correlates with exposure but not with symptoms. *Infection and Immunity*, 2001; 69: 1172-1174.
764. Robinson P, Okhuysen PC, Chappell CL, Weinstock JV, Lewis DE, Actor JK, et al. Substance P expression correlates with severity of diarrhea in *cryptosporidiosis*. *The Journal of Infectious Diseases*, 2003; 188: 290-296.
765. Ojcius DM, Perfettini JL, Bonnin A, Laurent F. Caspase-dependent apoptosis during infection with *Cryptosporidium parvum*. *Microbes and Infection*, 1999; 1: 1163-1168.
766. Alleyne L, Fitzhenry R, Mergen KA. Epidemiology of *Cryptosporidiosis*, New York City, New York, USA, 1995-2018. *Emerg Infect Dis* 2020; 26.
767. McLauchlin J, Pedraza-Diaz S, Amar-Hoetzeneder C, Nichols GL. Genetic characterization of *Cryptosporidium* strains from 218 patients with diarrhea diagnosed as having sporadic *cryptosporidiosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999; 37: 3153-3158.

768. Amar CFL, East C, Maclure E, McLauchlin J, Jenkins C, Duncanson P, et al. Blinded application of microscopy, bacteriological culture, immunoassays and PCR to detect gastrointestinal pathogens from faecal samples of patients with community acquired diarrhoea. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2004; 23: 529–534.
769. Magi B, Canocchi V, Tordini G, Cellesi C, Barberi A. *Cryptosporidium* infection: diagnostic techniques. Parasitol Res. 2006; 98: 150–152.
770. Morgan UM, Pallant L, Dwyer BW, Forbes DA, Rich G, Thompson RC. Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. Journal of Clinical Microbiology, 1998; 36: 995-998.
771. Çeliksöz A, Çelik S. Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesinde gastroenteritli ve malnütrasyonlu hastalarda *Cryptosporidium* spp. araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2003; 27: 85-88.
772. Fındık D, Karabayraktar A. Gaita Örneklerinde *Cryptosporidium* Ookistlerinin Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 1994; 18: 415-419.
773. Özçelik S, Dökmetaş S, Sümer Z, Üçağasıoğlu D, Dökmetaş G. Gastroenteritlerde *Cryptosporidium* görülme sıklığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 1996; 20: 333-337.
774. İnceboz T, Sarı B, Orhan V. Gastrointestinal şikayetleri olan olgularda *Cryptosporidium* araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2002.
775. Atambay M, Daldal N, Çelik T. Malatya'da ishallerde dışkıları *Cryptosporidium* spp. araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2003; 27: 12-14.
776. Sandy A, David K. Marx Rosen's Emergency Medicine. In: Adams J, Marx J, Rosen P, Hockberger R, Walls R (editors). Concepts and clinical practise 7th ed; 2009: 1200-1215.
777. Clark B, McKendrick M. A review of viral gastroenteritis. Current Opinion in Infectious Diseases, 2004; 17: 461.
778. Patel MM, Halla AJ, Jan V, Parashar UD. *Noroviruses*: A comprehensive review. Journal of Clinical Virology, 2009; 44: 1-8.

779. Altındış M, Bányai K, Kalaycı R, Gulamber C, Koken R, Yoldaş Y, et al. Frequency of *norovirus* in stool samples from hospitalized children due to acute gastroenteritis in Anatolia, Turkey, 2006–2007. *Scand J. Infect. Dis.* 2009; 9: 41: 685- 688.
780. Nakanishia K, Tsugawab T, Honmaa S, Nakatac S, Yotoa Y, Tsutsumia H. Detection of enteric viruses in rectal swabs from children with acute gastroenteritis attending the pediatric outpatient clinics in Sapporo, Japan *J. Clin. Virology* 2009; 46: 94–97.
781. Subekti D, Lesmana M, Tjaniadi P, Safari N, Frazier E, Simanjuntak C. Incidence of *Norwalk-like viruses*, *rotavirus* and *adenovirus* infection in patients with acute gastroenteritis in Jakarta, Indonesia *FEMS Immunol Med. Microbiol.* 2002; 33: 27-33.
782. Chen S, Ni Y, Chen H, Chang M. Microbial Etiology of Acute Gastroenteritis in Hospitalized Children in Taiwan *J. Formos Med. Assoc.* 2006; 105: 12.
783. Nguyen GT, Phan K, Teng I, Pu J, Watanabe T. A systematic review and meta analysis of the prevalence of *norovirus* in cases of gastroenteritis in developing countries. *Medicine* 2017; 40: 96: 8139.
784. Kreidieh K, Charide R, Dbaibo G, Melhem NM. The epidemiology of *Norovirus* in the Middle East and North Africa (MENA) region: a systematic review. *Virol J* 2017; 14 (1): 220. doi: 10. 1186/s12985-017-0877-3.
785. O’Ryan M, Riera-Montes M, Lopman B. *Norovirus* in Latin America: Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2017; 2: 36: 127-134.
786. Thongprachum A, Khamrin P, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Epidemiology of gastroenteritis viruses in Japan: Prevalence, seasonality, and outbreak. *J Med Virol* 2016; 4: 88: 551-570.
787. İnan N, Kabakoğlu ÜE, Demirel A, Mamçu D, Sönmez E, Arısoy A. Akut Viral Gastroenterit Ön Tanılı Vakalarda *Rotavirus*, *Adenovirus* Ve *Norovirus* Sıklığının Araştırılması. *ANKEM Derg.* 2014; 1: 28: 14-19.
788. Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinjé J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, et al. Natural history of human *calicivirus* infection: a prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 3: 35: 246-253.

789. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014; 8: 14: 725-730.
790. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. *Norovirus* gastroenteritis. *Engl. J. Med.* 2009; 18: 361: 1776-1785.
791. Walter F, Ott JJ, Claus H, Krause G. Sex- and age patterns in incidence of infectious diseases in Germany: analyses of surveillance records over a 13-year period (2001-2013). *Epidemiol Infect* 2018; 3: 146: 372-378.
792. Mesquita JR, Nascimento MS. *Norovirus* GII. 4 antibodies in the Portuguese population. *J. Infect. Dev Ctries.* 2014; 8: 9: 1201-1204.
793. Aksu A, Akçalı A. Detection of *norovirus* infections in Canakkale with ELISA and RT-PCR. *Cukurova Med. J.* 2016; 3: 41: 533-538.
794. Altay A, Bozdayı G, Meral M, Dallar Bilge Y, Dalgıç B, Ozkan S, et al. Investigation of *norovirus* infection incidence among 0-5 years old children with acute gastroenteritis admitted to two different hospitals in Ankara, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2013; 1: 47: 98-108.
795. Battaglioli G, Nazarian EJ, Lamson D, Musser KA, St George K. Evaluation of the RIDAQuick *norovirus* immunochromatographic test kit. *J. Clin. Virol.* 2012; 3: 53: 262-264.
796. Bruggink LD, Dunbar NL, Marshall JA. Evaluation of the updated RIDA®QUICK (Version N1402) immunochromatographic assay for the detection of *norovirus* in clinical specimens. *J. Virol. Methods* 2015; 223: 82-87.
797. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. *Norovirus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 1: 28: 134-164.
798. Jonckheere S, Botteldoorn N, Vandecandelaere P, Frans J, Laffut W, Coppens G, et al. Multicenter Evaluation Of The Revised RIDA® QUICK test (N1402) For Rapid Detection Of *Norovirus* In A Diagnostic Laboratory Setting. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2017 May; 1: 88: 31-35.

799. Takanashi S, Okame M, Shiota T, Takagi M, Yagyu F, Tung PG, et al. Development of A Rapid Immunochromatographic Test For *Noroviruses* Genogroups I and II. . J Virol Methods 2008; 148: 1-8.
800. Ushijima H, Thongprachum A, Khamrin P, Takanashi S, Okitsu S, Maneekarn N, et al. Evaluation of Immunochromatographic Tests and a New Enzyme Immunoassay for Detection of a Novel GII.17 *Norovirus* in Stool Samples. Jpn. J. Infect. Dis. 2017; 3: 70: 326-328.
801. Théry L, Bidalot M, Pothier P, Ambert-Balay K. Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17w355in stool samples, January 2016. Euro Surveill 2016; 21:4.
802. Balcı Y, Polat Y, Çevüt İ, Canural R. Denizli’de 0-5 Yaş Arası Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* Tip 40/41 Sıklığı Yeni Tıp Dergisi 2010; 27: 1-15.
803. Gültepe B, Yaman G, Aytekin Çıkman A, Güdücüoğlu H. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerde *Rotavirus* ve *Adenovirus* Sıklığı Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2012; 1: 42 1: 16-20.
804. Chen S, Ni Y, Chen H, Chang M. Microbial Etiology of Acute Gastroenteritis in Hospitalized Children in Taiwan J Formos Med. Assoc. 2006; 105:12.
805. Wiegering V, Kaiser J, Tappe D, Weißbrich B, Morbach H, Girschick H. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients Int. J. Infectious Diseases . 2011; 15: 401–407.
806. Nakanishia K, Tsugawab T, Honmaa S, Nakatac S, Yotoa Y, Tsutsumia H. Detection of enteric viruses in rectal swabs from children with acute gastroenteritis attending the pediatric outpatient clinics in Sapporo, Japan J. Clin. Virology. 2009; 46: 94–97.
807. Huha J, Kima W, Moona S, Leea J, Limb Y. Viral etiology and incidence associated with acute gastroenteritis in a 5-year survey in Gyeonggi province, South Korea J. Clin. Virology. 2009; 44: 152–156.

808. Sdiri-Loulizi K, Garbi-Kehelifi H, de Rougemont A. Acute Infantile Gastroenteritis Associated with Human Enteric Viruses in Tunisia. *J. Clin. Microbiol.* Apr, 2008: 1349-1355.
809. Zhang S. Symptomatic And Asymptomatic Infections Of *Rotavirus*, *Norovirus*, And *Adenovirus* Among Hospitalized Children İn Xi'an, China *J. Med. Virol.* 2011: 83 (8): 1476-1484.
810. Akıncı N, Ercan T, Yalman N, Eren A, Sevrge B, Ercan G. Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* *Çocuk Enf. Derg.* 2007: 1: 98-101.
811. Frequency of *Rotavirus*, *Adenovirus* and *Astrovirus* among Patients with Acute Diarrhea by Chromatographic Immunoassay and Enzyme Linked Immunosorbent Arwa Mujahid Abdullah Al-Shuwaikh *Journal: Jornal of Biotechnology Research Center* ISSN: 18151140. 2016: 10 (2): 58-64.
812. Karadag A, Acikgoz ZC, Avcı Z. Childhood diarrhoea in Ankara, Turkey: Epidemiological and clinical features of *Rotavirus*-positive versus *Rotavirus*-negative cases. *Scand J. Infect. Dis.* 2005: 37: 269-275.
813. Bernstein DI, Ward RL. Rotaviruses. In: Feigin RD, Cherry JD (editors). *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 5th ed. Vol 2. Philadelphia, PA: Saunders; 2004: 2110–2133.
814. Velazquez FR, Matson DO, Guerrero ML. Serum antibody as a marker of protection against natural *Rotavirus* infection and disease. *J. Infect. Dis.* 2000: 182: 1602-1609.
815. Akdoğan D, Çınar S, Şahin İ, Per H, Kılıç H. 0-5 Yaş Çocuk İshallerinde *Rotavirus* Araştırılması. *İnfeksiyon Derg.* 2001: 15: 291-294.
816. Doğan N, Akgün Y. 0-6 Yaş Grubu Gastro-Enterit Olgularında *Rotavirus* Varlığı. *İnfeksiyon Derg.* 1998: 12: 493-495.
817. Durmaz R, Kalaycioglu AT, Acar S. Turkish *Rotavirus* Surveillance Network. Prevalence of *Rotavirus* Genotypes İn Children Younger Than 5 Years of Age Before The Introduction of A Universal *Rotavirus* Vaccination Program: Report of *Rotavirus* Surveillance İn Turkey. *PLoS ONE*. 2014: 9: 1–19.

818. Bozdayı G, Dogan B, Dalgıç B. Diversity of *Human Rotavirus* G9 among children in Turkey. J. Med. Virol. 2008; 80: 733–740.
819. Zarakolu P, Levent B, Gözalan A. İshalli Çocuklarda *Rotavirus* Ve Enterik *Adenovirüs* Sıklığının Araştırılması. Flora. 1999; 4: 64-67.
820. İrvem A, Yücel FM, Yıldırım M, Kadanalı A, Dede B. Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda *Rotavirüs* Görülme Sıklığı. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2014; 3: 44: 98-100.
821. Çalgın MK, Çetinkol Y, Yıldırım AA, Erdil A, Dağlı A. Ordu İlindeki Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* ve Enterik *Adenovirüs* Sıklığının Araştırılması. Ankem Dergisi. 2015; 2: 29: 59-65.
822. Tekin M, Topaloğlu N, Yıldırım Ş, Binnetoğlu K, Kaymaz N, Aylanç H. Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* Sıklığı. International Journal of Clinical Research. 2014; 1: 2 : 18-20.
823. Borsa BA, Tokman HB, Çağatay P. Mardin Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde 0-5 Yaş Arası Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* Ve *Adenovirüs* Sıklığının Belirlenmesi. Ankem Dergisi. 2013; 2: 27: 75-79.
824. Iraz M, Ceylan A. Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda *Rotavirus* Sıklığı. Ankem Dergisi. 2013; 1: 27: 2-6.
825. Yazıcı V, Manzur Y, Akbulut A. Akut Gastroenteritli Olgularda *Rotavirus* ve Enterik *Adenovirus* Enfeksiyonlarının Sıklığının Araştırılması. Klimik Dergisi. 2013; 1: 26: 13-16.
826. Bayraktar B, Toksoy B, Bulut E. Akut Gastroenteritli Cocuklarda *Rotavirus* ve *Adenovirus* Saptanması. Klimik Dergisi. 2010; 23 (1): 15-17.
827. Gültepe B, Güdücüoğlu H, Çıkman A, Parlak M, Berktaş M. Van Yöresinde Gözlenen Gastroenteritlerde *Rotavirus* ve *Adenovirus* Sıklığı. Sakarya Medical Journal. 2013; 3: 131-134.

828. Altındış M, Beştepe G, Çeri A, Yavru S, Kalaycı R. Akut ishal yakınmalı çocuklarda *Rotavirüs* ve enterik *Adenovirüs* sıklığı. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2008; 2: 15: 17-20.
829. Yüksel P, Çelik DG, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde *Rotavirus* Antijen Pozitifliğinin Değerlendirilmesi. Klimik Dergisi. 2011; 1: 24: 48-51.
830. Doğan Y, Ekşi F, Karslıgil T, Bayram A. Akut Gastroenteritli Hastalarda *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* Varlığının Araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2014; 1: 44 : 18-22.
831. Çaycı YT, Yılmaz G, Birinci A. Akut Gastroenterit Vakalarında *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* Sıklığının Araştırılması. Pamukkale Tıp Dergisi. 2017; 1: 10: 61-65.
832. Kaya S, Ergün A, Aynalı A, Öztürk T, Önal S, Arıdoğan BC. Dışkı örneklerinde rotavirus pozitifliği ve mevsimsel sıklığının incelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2013; 2: 4: 54- 56.
833. Dağı HT, Fındık D. Akut gastroenteritli hastalarda rotavirüs ve adenovirüs antijenlerinin araştırılması. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2014; 2: 5: 256-260.
834. Oğuz S, Kurt F, Tekin D, Kocabaş BA, İnce E, Suskan E. Çocuk Acil Servisinde *Rotavirus* Gastroenteritlerinin Yüğü. J. Pediatr Inf. 2014; 8: 99-104.
835. Çelik AY, Emiroğlu M, Kurtoğlu MG, İnci A. Odabaş D. Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Viral Etkenlerin Sıklığının Araştırılması. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi. 2016; 2: 101-106.
836. Altındış M, Küçükkurt Ş, Kalaycı R, Aslan FG, Bükülmez A, Yoldaş Y. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus, Enterik Adenovirus ve Norovirus Sıklığı. Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi. 2016; 1 (1): 1-12.
837. Ye S, Lambert SB, Grimwood K, Roczo-Farkas S, Nimmo GR, Sloots TP, et al. Comparison of test specificities of commercial antigen-based assays and in-house PCR methods for detection of rotavirus in stool specimens. J. Clin. Microbiol. 2015; 1: 53: 295-297.

838. Karagün BŞ, Gürsu HA, Korkmaz Ö, Bozdağ İ, Hasbek M. Beş Yaşın Altında Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* ve Enterik *Adenovirüs* Sıklığının Araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2014; 2: 44: 70-74.
839. Atalay AM, Kandemir İ, Gökahmetoğlu S. Üçüncü Basamak Bir Hastanedeki Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* Enfeksiyonu Sıklığı. Dicle Tıp Dergisi. 2013; 2: 40: 212-215.
840. Özdemir M, Demircili ME, Feyzioğlu B, Yavru S, Baysal B. İshalli Hastalarda Akut Viral Gastroenterit Etkenlerinin Araştırılması. Selçuk Tıp Dergisi. 2013; 3: 29: 127-130.
841. Nazik H, İlktaç M, Öngen B. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde *Rotavirus* Sıklığının Araştırılması. ANKEM Dergisi. 2006; 4: 20: 233-235.
842. Çelik AY, Emiroğlu M, Kurtoğlu MG, İnci A, Odabaş D. Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Viral Etkenlerin Sıklığının Araştırılması. Türkiye Çocuk Hast Derg/Turkish J Pediatr. Dis. 2016; 2: 101-106.
843. Kızılırmak A, Çalışkan E, Temizkan RC. Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirus* ve *Adenovirus* Sıklığı. Konuralp Tıp Dergisi. 2017; 2: 9: 112-116.
844. Şafak B. Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda *Rotavirus* ve *Adenovirus* Sıklığı. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2014; 2: 5: 121-124.
845. Balkan ÇE, Çelebi D, Çelebi Ö, Altıparlak Ü. Erzurum’da 0-5 Yaş Arası Çocuklarda *Rotavirus* ve *Adenovirus* Sıklığının Araştırılması. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2012; 2: 42: 51-54.
846. Kayıran SM, Gürsoy T, Palaoğlu E, Gürakan B. İstanbul Amerikan Hastanesi’ne Başvuran Gastroenteritli Çocuklarda *Adenovirus*, *Norovirus* Ve *Rotavirus* Sıklığı. Ankem Dergisi. 2017; 3: 31: 106-110.
847. Casorla-Perez LA, Lopez T, Lopez S, Arias CF. The Ubiquitin Proteasome System Is Necessary for Efficient Replication of *Human Astrovirus*. J. Virol. 2018; 2: 92.

848. Özer B, Jenedi K, Pehlivanoğlu C, Göçmen M. Akut Gastroenteritli Hastaların Dışkı Örneklerinde *Rotavirüs* ve *Adenovirüs* Sıklığı. Mustafa Kemal Üni. Tıp Derg. 2014; 5: 20: 1-10.
849. Otağ F, Direktel Ş, Özgür D. Akut Gastroenteritli Çocuklarda *Rotavirüs* ve Enterik *Adenovirüs* Antijenlerinin Hızlı İmmunokromatografik Yöntemle Atıştırılması. Mersin Üni. Sağlık Bilim Derg 2012; 3: 5: 18-23.



6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2004-2011 yılları arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimimi tamamladım. 2012 yılında Malatya Arapgir Devlet Hastanesi acil servisinde çalıştım. 2014-2015 yılları arasında Bingöl Yayladere 2. Jandarma Komando Taburunda askerlik hizmetimi tamamladım. 2016 yılında başladığım mikrobiyoloji asistanlığına Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.

