



**AKUT GASTROENTERİTLİ HASTALARIN KLİNİK ÖRNEKLERİNDE
SALMONELLA, *SHIGELLA* VE *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN KÜLTÜR
VE PCR YÖNTEMİ İLE TESPİT EDİLMESİ VE ANTİBİYOGRAF
DUYARLILIĞININ SAPTANMASI**

Gamze AVCİ

1188208101

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Nuri KİRAZ

Tez No: 2021/129

TEKİRDAĞ-2021

T.C
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKUT GASTROENTERİTLİ HASTALARIN KLİNİK ÖRNEKLERİNDE
SALMONELLA, *SHIGELLA* VE *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN KÜLTÜR
VE PCR YÖNTEMİ İLE TESPİT EDİLMESİ VE ANTİBİYOGRAF
DUYARLILIĞININ SAPTANMASI

Gamze AVCİ
1188208101

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nuri KİRAZ

Bu Tez Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından NKUBAP.02.YL.20.246 proje numarası ile
desteklenmiştir.

Tez No: 2021/129

TEKİRDAĞ-2021

KABUL ve ONAY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Prof. Dr. Nuri KİRAZ danışmanlığında yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

07 /10 / 2021

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Jüri Başkanı

Kırklareli Üniversitesi

Üye

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Gamze AVCİ'nin "Akut Gastroenteritli Hastaların Klinik Örneklerinde *Salmonella*, *Shigella* Ve *Campylobacter* Türlerinin Kültür Ve PCR Yöntemi İle Tespit Edilmesi Ve Antibiyogram Duyarlılığının Saptanması " başlıklı tezi 07.10.2021 günü saat 15.30'da Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Nilda TURGUT

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Müdür

ÖZET

AKUT GASTROENTERİTLİ HASTALARIN KLİNİK ÖRNEKLERİNDE *SALMONELLA*, *SHIGELLA* VE *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN KÜLTÜR VE PCR YÖNTEMİ İLE TESPİT EDİLMESİ VE ANTİBİYOGRAF DUYARLILIĞININ SAPTANMASI

Akut gastroenterit, özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Beş yaş altı çocuklar daha sık etkilenmekle birlikte, tüm yaş gruplarında görülmekte ve ölüm nedeni olarak bazı ülkelerde kalp damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Gastroenteritlerde etkenin belirlenmesi tedaviye yön vermesinin yanısıra, mortalite ve morbiditenin azalmasında önem taşımaktadır. Ayrıca bakteriyel enterokolitlerde etkenin belirlenmesi hastalığının yayılımının önlenmesi açısından da önemlidir. Su ve bazen gıda kaynaklı kitlesel salgınlar yapabilen bu bakteri türleri halk sağlığı için kayda değer öneme sahiptir. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Campylobacter* spp. akut gastroenteritlerin bakteriyel etkenleri arasında genellikle ilk üç sırada yer alır. Sağlık bakanlığı laboratuvarlarının verilerine göre *Shigella* spp.'nin hemen hemen *Campylobacter* spp. ile benzer sıklıkta görüldüğü ve *Salmonella* spp.'den sonra ikinci sırada olduğu ve yılda 200 ila 400 arasında vaka bildirildiği bilinmektedir. Buna rağmen verilerin epidemiyolojik tahminlerin çok altında olduğu düşünülmektedir. Laboratuvarların tanımladıkları vakaları bildirmeyi ihmal etmeleri, inceleme yapan laboratuvar sayısının yeterli olmaması ve teknik yetersizlikler verilerin az olmasının nedenleri arasındadır. Buna ek olarak tanı kapasitesinin yetersizliği vakaların tanı alamamasına veya farklı tanımlar almasına yol açmaktadır. Bölgemize ait *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* epidemiyolojik verilerini ortaya çıkarmak için laboratuvarımıza gönderilen gaita kültürlerinden *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin üretilmesi ve PCR ile varlığının saptanması amaçlanmıştır. Araştırmamız için ishali olan hastalardan rutin poliklinik hizmeti kapsamında istenen gaita kültürü sonuçlarından yararlanılmıştır. Laboratuvarında rutin uygulamada gelen dışkı örnekleri; *Campylobacter* agar, *Salmonella-Shigella* agara ekim yapıldı. Moleküler çalışmalar için dışkı örneği -20 °C'de bekletildi. *Salmonella* ve *Shigella* türleri için 48 saat,

Campylobacter türleri için 72 saat sonra kültürler değerlendirildi. Şüpheli üremelerden konvansiyonel yöntemler (TSI agar, antiserum, gram boyama, oksidaz vb.) ile tanımlama işlemi sonrası *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* tespit edilen örnekler için EUCAST kriterlerine göre antibiyogram yapıldı. *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* üreyen veya direkt mikroskopik incelemesinde lökosit görülen hastaların dışkı örneklerinden real-time PCR yöntemi ile *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* varlığı araştırıldı. Ülkemizde ve dünyada gastroenterit şüpheli hastaların dışkılarında *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Shigella* bulunma sıklığı (yaklaşık %5) baz alındığında 400 gastroenterit şüpheli hastanın dışkı örneğinin çalışılması yeterli bulunmuştur. Kültürde ve PCR’da elde edilen verilerin istatistiksel analizinin yüzde oranları:

- Kültür sonuçları: *Salmonella* türü %1, *Campylobacter* türü %2,5 olarak tespit edildi. *Shigella* türü bakteri tespit edilmedi.
- PCR sonuçları: *Salmonella* türü %1,25, *Campylobacter* türü %8,25 olarak tespit edildi. *Shigella* türü bakteri tespit edilmedi.

Uygun programlar yürütülerek, gerçek epidemiyolojik veriler elde edilerek doğru ve güvenilir laboratuvar sonuçları sayesinde bu enfeksiyonların ciddi birer halk sağlığı sorunu olduğu anlaşılacak ve önem kazanacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, EUCAST, Gastroenterit, Real-time PCR

ABSTRACT

DETERMINATION OF *SALMONELLA*, *SHIGELLA* AND *CAMPYLOBACTER* SPECIES BY CULTURE AND PCR METHOD IN CLINICAL SAMPLES OF PATIENTS WITH ACUTE GASTROENTERITIS AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY

Acute gastroenteritis is a major cause of morbidity and mortality, especially in developing countries. Although children under the age of five are more often affected, it is seen in all age groups and ranks second after cardiovascular diseases in some countries as a cause of death. Determination of the causative agent in gastroenteritis is important in reducing mortality and morbidity, as well as guiding the treatment. In addition, the determination of the agent in bacterial enterocolitis is also important in terms of preventing the spread of the disease. These types of bacteria, which can cause mass outbreaks from water and sometimes food, are of considerable public health importance. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Campylobacter* spp. are usually the top three bacterial agents of acute gastroenteritis.

According to the data of the laboratories of the Ministry of Health, it is known that *Shigella* spp. is seen with almost the same frequency as *Campylobacter* spp, and it is in the second place after *Salmonella* spp, with between 200 and 400 cases reported annually. Despite this, the data is thought to be well below epidemiological estimates. Among the reasons why laboratories neglect to report the cases they identify, the number of laboratories that conduct investigations is not sufficient, and technical deficiencies are insufficient data. In addition, a lack of diagnostic capacity leads to cases not being diagnosed or receiving different diagnoses. It is aimed to produce *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* species from gaita cultures sent to our laboratory to reveal epidemiological data of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* belonging to our region and to determine its presence with PCR. For our research, gaita culture results requested from patients with diarrhea within the scope of routine outpatient service were used. Stool samples from routine practice in the laboratory;

Were cultivated on *Campylobacter* agar, *Salmonella Shigella* agar. For molecular studies, the stool sample was kept at -20 degrees Celsius. Cultures were evaluated after 48 hours for *Salmonella* and *Shigella* species and 72 hours for *Campylobacter*

species. Conventional methods of suspicious reproduction (TSI agar, antiserum, gram staining, oxidase, etc.) after identification with, antibiotics were performed according to EUCAST criteria for *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* samples. The presence of *Salmonella*, *Shigella* and *Campylobacter* was investigated by real-time PCR method in stool samples of patients with *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella* growth or with leukocytes in direct microscopic examination. Based on the frequency (approximately 5%) of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella* in the faeces of patients suspected of gastroenteritis in our country and around the world, it was sufficient to study the stool sample of 400 patients suspected of gastroenteritis. Percentage rates of statistical analysis of data obtained in culture and PCR:

- Culture results: *Salmonella* species were identified as 1% and *Campylobacter* species as 2.5%. The species *Shigella* has not been identified.
- PCR results: *Salmonella* type was found to be 1.25%, *Campylobacter* type was found to be 8.25%. No *Shigella*-type bacteria have been identified.

By carrying out appropriate programs, obtaining real epidemiological data and accurate and reliable laboratory results, it will be understood that these infections are a serious public health problem and will become important.

Key words: *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, EUCAST, Real-time PCR, Gastroenteritis

TEŞEKKÜR

Tıbbi Mikrobiyoloji alanında akademik bilgi ve beceri kazanmamı sağlayan, çalışmamın başından itibaren desteğini ve yardımını esirgemeyen tez danışmanım değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok sevdiğim kıymetli Hocam Sayın Doç. Dr. Birol ŞAFAK'a teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca akademik bilgisini ve kişisel hayatımda manevi desteğini esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL'a şükranlarımı sunarım. Lisanüstü eğitimimde akademik bilgisini paylaşan değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Dumrul GÜLEN'e, tez çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli Hocam Sayın Uzm. Dr. Hülya DURAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında emeği geçen hastane çalışanlarımıza ve laboratuvar olanaklarını hizmetimize sunmuş olan BİOEKSEN Arge ekibine destek verdikleri için teşekkür ederim.

Tez yazım sürecimde özveriyle yanımda olan değerli öğretmen arkadaşım Sayın Emine KÖKEN'e, her zaman desteğini hissettiğim değerli öğretmenim Sayın Aylin ÖZER'e, akademik eğitim sürecimde beni cesaretlendiren sevgili kardeşim Esra Nur AVCI'ye ve aileme teşekkür ederim.

BEYAN FORMU

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde eksiksiz biçimde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Gamze AVCİ



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
BEYAN FORMU.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
TABLolar.....	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xv
1. SALMONELLA.....	1
1.1. Tarihçe.....	1
1.2. Sınıflandırma.....	2
1.3. Morfoloji.....	2
1.4. Antijenik Yapı.....	3
1.5. Biyokimyasal Özellikleri.....	4
1.6. Kültür ve Üreme Özellikleri.....	5
1.7. Klinik Önemi.....	8
1.7.1. Gastroenterit.....	8
1.7.2. Tifo.....	8
1.7.3. Sepsis ve Lokal Organ Enfeksiyonları.....	9
1.8. Epidemiyoloji.....	9
2. CAMPYLOBACTER.....	11
2.1. Tarihçe.....	11
2.2. Sınıflandırma.....	12
2.3. Yapısal Özellikleri.....	13
2.4. Üreme Özellikleri.....	13
2.5. Biyokimyasal Özellikleri.....	13
2.6. Genetik Özellikler.....	14
2.7. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Duyarlılıkları.....	15

2.8. Klinik Önemi.....	15
2.9. Epidemiyoloji.....	16
2.10. Campylobacter Enfeksiyonlarının Tanı Yöntemleri	16
2.10.1. Numunelerin Alınması ve Transportu.....	16
2.10.2. Direkt Mikroskopik İnceleme	17
2.10.3. Kültür Yöntemi ile İzolasyon.....	18
2.10.4. Kültür Özellikleri ve Biyokimyasal Yöntemlerle Tanımlama	19
2.10.5. Moleküler Yöntemlerle Tanımlama.....	19
2.10.6. Dışkıda Antijen Arayan Testler	20
2.11. Tedavi.....	20
3. SHIGELLA	22
3.1. Tarihçe.....	22
3.2. Morfoloji, Üreme ve Boyama Özellikleri	22
3.3. Antijenik Yapı ve <i>Shigella</i> Tipleri	24
3.4. Virulans ve Patojenite Özellikleri	25
3.5. Biyokimyasal Özellikler.....	26
3.6. Patogenez	26
3.7. Klinik	27
3.8. Gastroenterit.....	27
3.9. Tedavi.....	28
4. MATERYAL METOD	29
4.1. Kültür Ortamının Hazırlanması	29
4.1.1. Kullanılan Besiyerleri	29
4.1.2. Ayıraçların Hazırlanması	31
4.1.3. Antiserumlar.....	31
4.1.4. Antibiyotik Diskleri (Bioanalyse, Türkiye)	32
4.2. Örneklerin Seçimi	32
4.3. Mikroskopik İnceleme	32
4.4. Örneklerin Kültür Plaklarına Ekimi ve Tanımlanması	33
4.5. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi.....	34
4.6. Real-time PCR Yöntemi	34
5. BULGULAR.....	36

6. TARTIŞMA	39
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
8. KAYNAKLAR	45



TABLÖLAR

Tablo 1. <i>Salmonella</i> spp. Antijenik Yapıları.....	4
Tablo 2. Tür ve Alt Türlerin Biyokimyasal Özellikleri	5
Tablo 3. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Fenotipik Özelliklerine Göre Tanımlanmaları..	14
Tablo 4. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu.	19
Tablo 5. <i>Shigella</i> spp. ve <i>E. coli</i> 'nin Ortak Biyokimyasal Özellikleri	23
Tablo 6. <i>Shigella</i> spp. Ve <i>E. coli</i> 'nin Ayrımında Kullanılan Biyokimyasal Özellikleri.....	23
Tablo 7. <i>Shigella</i> Tür ve Serotiplerinin Dağılımı.....	24
Tablo 8. <i>Shigella</i> Türlerinin Biyokimyasal ve Serolojik Ayrımları.....	25
Tablo 9. Antibiyotik Disk Listesi.....	32

SİMGE VE KISALTMALAR

AIDS:	Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
CAMPY-CVA:	Sefoperazon, Vankomisin, Amfotirisin
CAMPY-EIA:	Campylobacter Enzim Immunoassay
CCDA:	Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar)
CSM:	Kömür Bazlı Selektif Besiyeri
EIEC:	Enteroinvaziv E. coli
EMB:	Eozin Metilen Blue Agar
EUCAST:	European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing
GBS:	Guillain-Barre Sendromu
GIS:	Gastrointestinal Sistem
HE:	Hektoen Enterik Agar
H ₂ S:	Hidrojen Sülfür
mm:	Milimetre
NBGL:	Novobiyosin Brilliant Green Gliserol Laktoz
ONPG:	Ortho-nitrophenyl-b-D-galactopyranoside
PCR:	Polymerase Chain Reaction
RV:	Rappaport-Vassailidis
SM-ID:	<i>Salmonella</i> -identifikasyon
SSA:	Skirrow Selective Agar
TSI:	Triple Sugar Iron
UEPLA:	Laboratuvar Sürveyans Ağı
WKL:	White-Kauffmann-Le Minor Şeması
XLD:	Ksiloz Lizin Deoksikolat Agar
µg:	Mikrogram
µl:	Mikrolitre

1. SALMONELLA

1.1. Tarihçe

Pierre Louis 1829 yılında, ölen bir insanın abdominal lenf nodlarındaki lezyonları saptayarak “tifo ateşi” terimini kullanmaya başlayınca *Salmonellalarla* ilgili kayıtlar atılmaya başlanmıştır. Tifo ateşi Yunanca “tifüs” sözcüğünden gelmektedir. Hastalık sırasında hastalarda görülen deliriumu tanımlarken kullanılmıştır (Barnett 2016). Tifo kelimesi Pierre Louis tarafından kullanılmış, ancak o tifüs ve tifo arasında açık ve kesin bir ayrım yapmamıştır. Gerhard 1837’de, tifoyu tifüs ateşinden açıkça ayıran ilk kişi olmuştur.

William Budd, 1856’dan 1860’a kadar tifo ateşinin kötü koku yoluyla bulaşmadığını, ancak dışkıda, bozulmuş sütte, suda ve hastayı ziyaret edenlerin ellerinde bulaştırıcı maddenin bulunduğu bir sindirim hastalığı olduğunu belirtmiş, bakteriyel kökenli bulaşıcı hastalıklardan 20 yıl önce keşfedilmiştir (Miller ve Pegues 2000). Alman bir patolog olan Karl Eberth tifodan ölen bir hastanın dalak ve menenterik bezlerinde basili göstermiş ve Georg Gaffkey 1884’de bakterinin kültürünü yaparak üretmiştir (Ashurst ve diğ. 2020). 1884’te *Salmonella*’nın ilk başarılı kültürü ile birlikte onun teşhis ve profilaktik profilini tamamlamıştır. *Salmonella Typhi* enfeksiyonunun hava kaynaklı değil su kaynaklı olduğunu söyleyen ilk kişiydi (Miller ve Pegues 2000). Daniel Elmer Salmon, Theobald Smith ile beraber 1885’te domuz humması olan bir domuzun bağırsağından *Salmonellaları* izole etmiş ve hastalığa neden olan bakteriyi domuz kolerası olarak adlandırmışlardır (Jajere 2019). Daha sonra, Amerikalı veteriner Daniel Elmer Salmon’un adına ithafen *Salmonella* adı verilmiştir (Töreci 2013).

Salmonellaları tanımlanmak için 20.yy’nin ortalarına kadar birçok öncü çalışmalar yapılmıştır. Widal ve Grunbaum 1896’da hasta serumları ile basilin aglutine olduğunu bularak yeni bir serolojik tanı testi geliştirilmiştir. Castellani 1902’de bakterinin antijenik analizi ile ilgili çalışmalar yapmış, Smith ve Reagh 1903’de bakterinin somatik ve flajella antijenlerinin difazik olduğunu, Felix ve Pitt 1934’de Vi antijenini bulmuştur (Töreci ve Gedikoğlu 2013). White ve Kaufmann *Salmonella* serotiplerinin antijenik sınıflandırma sistemini yapmışlardır. Kaufmann-

White *Salmonellalar*ı somatik, kapsül ve flajella antijenlerine göre sınıflandıran bir serotip şeması oluşturarak geliştirmişlerdir. Kaufmann-White antijenik tablosu 1941’de 100 serotip içerirken, 2010’da 2610 serotipe ulaşmıştır. White-Kauffmann-LeMinor şeması (WKL) olarak anılmaktadır (Töreci 2013) (Grimont ve Weill 2007) (Guibourdenche ve diğ. 2010).

1.2. Sınıflandırma

*Salmonellalar*ın serotiplere ayrılması, bazılarının farklı enfeksiyonlara neden olması ve *Salmonellalar*ın epidemiyolojisini anlamadaki katkısı nedeniyle çok önemsenmiş ve ufak bir antijenik farkı olan serotiplerde ayrı bir tür gibi adlandırılmıştır. 1973’ten sonra türler genetik sınıflandırmaya göre belirlenmeye başlanmış ve bu yöntemle de *Salmonella* türleri birkaç kere yeniden tanımlanmıştır. DNA analizlerine ve 2005 yılında yapılan en son sınıflandırmaya göre *Salmonella* cinsinde sadece iki tür bulunmaktadır. *S. enterica* ve *S. bongori*. Eski sınıflandırmalardaki tüm türlerin neredeyse tamamı *S. enterica*’nın alt türü olarak kabul edilmiştir. Ancak günlük uygulamalarda eski sınıflandırma çok yerleşmiş olduğundan, tür adı yerine serotip adının kullanılmasına devam edilmektedir. Bu nedenle *Salmonella* nomenklatüründe diğer bakterilerden farklı olarak eskiden tür olarak kabul edilen serotipler *Salmonella* Typhimurium yazımı da kullanılmaktadır (Kaygusuz ve Töreci 2011).

1.3. Morfoloji

Salmonella bakterileri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alırlar. Gram boyama ile negatif boyanan 2-3 µm boyunda 0,6-0,8 µm eninde, spor oluşturmeyen basillerdir (Topçu 2017). Mukoid kolonisi oluşturan *Salmonellalar*da az çok ince kapsülleri bulunmaktadır. *S. Typhi* ve nadiren *S. Paratyphi A* ve *S. Paratyphi C* serotiplerindeki kökenlerde Vi antijeni denilen bakteriyi çevreleyen kapsül yapısı vardır. *Salmonella* Gallinarum serotipi dışında peritrikflagellaya bağlı olarak hareketli bir bakteridir. Ancak bazı klinik izolatlarda hareketsiz serotiplere de rastlanılmıştır. Çoğu *Salmonella* suşu fimbria sentezlemektedir. Bu fimbrialar daha çok tip 1 daha az sıklıkla tip 2 ve 3 şeklindedir (Gülmez 2013).

1.4. Antijenik Yapı

Somatik (O), Yüzeysel (Vi, M, Fimbria) ve Kirpik (H) antijenleri bulunmaktadır.

Somatik (O) antijeni; bütün *Salmonellalarda* mevcuttur. Hapten özelliği gösteren bu antijenik yapı protein ve lipitlere bağlı olan bir polisakkarit yapıdadır. Bu polisakkarit yapıya bağlı 3-4 adet monosakkaritten meydana gelen oluşturduğu oligosakkarit grupları antijene özgüllük sağlamaktadır. Bu antijenik yapı ısıya (110 °C'de 2,5 saat), alkole (%96'lık alkole 4 saat) ve asitlere dirençlidir. Ancak formale karşı dayanıksızdır. Bu sayede serolojik testler için özgül antijenler hazırlanabilmektedir. O antijenleri 1,2,3... şeklinde rakamlarla ifade edilmektedir.

Kirpik (H) antijeni; bakterilerin hareketinden sorumludur. Protein yapısındadırlar. Isı, alkol, asit ve proteolitik enzimlerle parçalanabilirler. Formole dirençlidirler. Bu özelliğinden yararlanılarak serolojik testler için antijen süspansiyonu ticari olarak hazırlanmaktadır. H antijeni ise, spesifik Faz veya Faz 1 antijeni ve nonspesifik veya Faz 2 antijeni adı verilen iki antijenik özelliğe sahiptir. Faz 1 antijenler a,b,c; Faz 2 antijenleri 1,2,3 diye isimlendirilmektedir.

Vi antijeni; somatik antijenin haricinde glikolipit yapısında bir antijendir. Bütün *Salmonellalarda* bulunmaz. Vi antijeni kapsül olarak da kabul edilmektedir. O antiserumuyla aglütinasyonu engellediği için 60 derece 1 saat ısıtılan bakteri Vi antijenini ortadan kaldırılarak O antiserumuyla aglütinasyon vermesi sağlanır.

M antijeni; mukoid koloni oluşturan bakterilerde bulunur. Özgül antikorların somatik antijenlerle reaksiyon vermesini engellediği için aglütinasyonu oluşmaz. Bu etki 100 derecede 2,5 saat ısıtılarak ortadan kaldırılabilir.

Fimbria (Pilus) antijeni; formole dayanıklıdır ancak 100 derecede 30 dakika ısıtıldığında özelliğini yitirmektedir (Procop ve diğ. 2017).

Tablo 1. *Salmonella* spp. Antijenik Yapıları.

Grup Adı	Ortak Antijen	<i>Salmonella</i> Serovarı	O Antijeni	Faz 1	Faz 2
A	O 2	<i>S. Paratyphi A</i>	1,2,12	A	1,5
B	O 4	<i>S. Typhimurium</i>	1,4,5,12	İ	1,2
C1	O 6,8	<i>S. Choleraesuis</i>	6,7	C	1,5
D1	O 9,12	<i>S. Typhi</i>	9,12 (Vi)	D	-

1.5. Biyokimyasal Özellikleri

Salmonellalar fakültatif anaeropturlar. Karbon kaynağı olarak glikozu kullanırlar ve glikozdan gaz (*S. Typhi* hariç) oluştururlar. Arabinoz, mannitol, ramnoz, sorbitol, trehaloz, dulsitol, maltoz ve ksilozufermante ederler. Laktoz kullanmazlar ama %1 gibi küçük bir kısmının laktozu fermente edilebilir. H₂S oluştururlar (*S. Paratyphi* hariç). Lizin ve ornitindekarboksilaz reaksiyonları pozitif, arjininidihidrolaz reaksiyonu değişkendir. Üreyi hidroliz etmezler. ONPG (Ortho-nitrophenyl-b-D-galactopyranoside) reaksiyonu negatiftir (*S. Arizonae* hariç). İndol testi negatif, metil kırmızısı testi pozitif, Vogesproskauer testi negatif, sitrat testi (*S. Choleraesuis*, *S. T* ve *S. Paratyphi A* hariç) pozitifdir (IMVIC: - + - +). *Salmonella* alt türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 2'de verilmiştir (Gülmez 2013-Procop ve diğ. 2017).

Tablo 2. Tür ve Alt Türlerin Biyokimyasal Özellikleri (Procop ve diğ. 2017).

Salmonella Tür ve Alt Türleri							
Biyokimyasal Testler	Enterica	Salamae	Arizonae	Diarizonae	Houtenae	Indica	Bongori
İndol	1	2	1	2	0	0	0
Metil kırmızısı	100	100	100	100	100	100	100
Voges-proskauer	0	0	0	0	0	0	0
Sitrat	95	100	99	98	98	89	94
H ₂ S	95	100	99	99	100	100	100
Üre hidrolizi	1	0	0	0	2	0	0
Fenilalanindeaminaz	0	0	0	0	0	0	0
Lizindekarboksilaz	98	100	99	99	100	100	100
Arjinindekarboksilaz	70	90	70	70	70	67	94
Ornitindekarboksilaz	97	100	99	99	100	100	100
Hareket	95	98	99	99	98	100	100
D-Gliroz asit	100	100	100	100	100	100	100
D-Glikoz gaz	96	100	99	99	100	100	94
Laktoz	1	1	15	85	0	22	0
Sükroz	1	1	1	5	0	0	0
D-Mannitol	100	100	100	100	98	100	100
D-Sorbitol	95	100	99	99	100	0	100
D-Mannoz	100	95	100	100	100	100	100
ONPG	2	15	100	92	0	44	94

1.6. Kültür ve Üreme Özellikleri

Salmonella bakterileri genellikle S tipi koloni oluştururlar. Bununla birlikte, M tipi koloni de oluşturabilirler. Ayrıca S ve M koloni tipini beraber gösteren suşların da varlığı bilinmektedir. Doğal ortamlarda biyofilm oluşturarak üreyebilirler (Gülmez 2013).

Salmonellalar rutin laboratuvarlarda kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. Dışkı gibi karışık flora bakterileri içeren klinik örneklerden izolasyon için ayırt edici ve seçici besiyerlerinin kullanımı gereklidir. Bu besiyerlerinin bir kısmı gram pozitif bakterileri, bir kısmı da hem gram pozitif hem de dışkıda bulunan ama patojen olmayan gram negatif bakterileri inhibe etme özelliğine sahiptir. Seçici besiyerleri ayırt edici besiyerlerine göre daha yüksek konsantrasyonlarda baskılayıcı maddeler içerirler. Bu besiyerleri genellikle, dışkı örneklerinde diğer gram negatifleri baskılayıp *Salmonella* ve *Shigella* türlerini üretir.

Salmonella türleri safra tuzları varlığında iyi ürerler. Seçici besiyerlerine safra tuzları eklenir; çünkü enterik basillerin diğer türleri ve daha zor üreyen bazı bakteriler bu besiyerlerinde zayıf üreme gösterir ya da hiç üremezler (Procop ve diğ. 2017). *Salmonellaların* genel üretim, seçici-ayırt edici, yüksek seçici ve zenginleştirici bazı besiyerlerini şöyle sıralayabiliriz;

Kanlı agar: Kazein, hayvan dokularının peptik özütü, maya özütü, sığır eti özütü, nişasta, NaCl, agar, %5 koyun kanı içermektedir. Genel üretim besiyeridir. Gram pozitif ya da gram negatif bakterileri bu besiyerinde rahatlıkla üremektedir. *Salmonella* cinsi de bu besiyerinde grimsi, sulu 2-3 mm boyutlarında koloni oluşturacak şekilde üremektedir.

MacConkey agar: Pepton, laktoz, safra tuzları, sodyum klorür, nötral kırmızı ve kristal viyole içeren seçici ayırt edici besiyeridir. Safra tuzlarıyla kristal viyole gram-pozitif bakterileri ve bazı gram-negatif bakterileri baskılar. Laktoz pozitif bakterilerin oluşturduğu karışık asitler nötral kırmızısı indikatörünün rengini değiştirdiği için kırmızının farklı tonlarında koloniler oluşmaktadır. *Salmonella* türleri istisnalar dışında renksiz ya da şeffaf koloniler meydana getirirler.

Eozin metilen blue (EMB) agar: Pepton, laktoz, sükröz, dipotasyum PO₄, eozin Y, metilen mavisi içeren seçici ayırt edici besiyeridir. Anilin boyaları (eozin ve metilen mavisi) gram-pozitif bakterileri ve bazı üreyen gram-negatif bakterileri baskılar. Bu boyalar asit üretimiyle çökelti oluşturur ve indikatör işlevi görürler. *Salmonella* türleri renksiz ya da şeffaf koloniler meydana getirirler.

Salmonella-Shigella (SS) agar: Et özütü, pepton, safra tuzu, laktoz, sodyumsitrat ve tiyosülfat, ferriksitrat, brilliant yeşili, nötral kırmızı içeren yüksek

seçici besiyerlerindedir. *Salmonellalar* renksiz ya da yarı saydam; H₂S üretimine bağlı olarak siyah merkezli olabilirler.

Ksilozlizindeoksikolat (XLD) agar: Maya özütü, sodyum klorür, deoksikolat ve tiyosülfat, ferrik amonyum sitrat, laktoz, sükroz, ksiloz, lizin ve fenol kırmızısı içeren yüksek seçici besiyeridir. Birçok *Salmonella* türü ksilozu fermente ederek XLD'de önce sarı koloniler oluşturur, ancak bu türler aynı zamanda lizini de dekarboksile ettiği için besiyeri içinde bulunan az miktardaki ksiloz kullanıldıktan sonra koloniler pembeye döner. Lizin dekarboksilasyonu sonucunda kuvvetli alkali aminler meydana geldiği için XLD agardaki kolonilerin çevresinde açık pembe hale görülebilir. H₂S oluşumuna bağlı olarak siyah pigment oluştururlar.

Hektoenenterik (HE) agar: Pepton, maya özütü, safra tuzu, ferrik amonyum sitrat, sodyum klorür ve tiyosülfat, laktoz, sükroz, salisin, bromtimol mavisi, asit fuksiniçeren yüksek seçici besiyeridir. *Salmonellalar* mavi ya da yeşil; H₂S'e bağlı siyah görünebilirler.

Bizmut sülfid ve brillant yeşili agarlar: Sürekli kullanılmayan yüksek seçici besiyerleridir. Özellikle dışkı örneklerinden *Salmonella* Typhi izolasyonu için tasarlanmışlardır. Salgın esnasında ya da endemik bölgelerde çok sayıda hastayı taramak için yararlıdırlar. Brillant yeşil agarda *S. Typhi* ve *S. Paratyphi A* üreyemez.

Selenit F buyyonu: Pepton, laktoz, sodyum fosfat ve selenit içeren zenginleştirici sıvı besiyeridir. Bazı gram negatif bakterilerinin üremesi selenit tarafından baskılanır. Buyyona ekimden 8-12 saat sonra örneğin yüksek seçici agar besiyerlerine pasajlanması gerekmektedir. Gram negatif buyyonda aynı amaçla kullanılmaktadır (Gülmez 2013) (Procop ve diğ. 2017) (Leber 2016). Bunlar dışında kullanılan besiyerleri; CHROM agar *Salmonella*, Modifiye yarı katı Rappaport-Vassailidis (RV) besiyeri, Novobiyosinbrillant gren gliserol laktoz (NBGL) agar, Rambach agar, *Salmonella*-identifikasyon (SM-ID) agardır. Fakat hiçbiri tek başına kullanım için yeterli değildir (Gülmez 2013).

Biyokimyasal özellikleri tanımlamak için kullanılan başlıca besiyerleri ise şu şekildedir:

Üç şekerli demirli agar (TSI): Et ve maya özütü, pepton, laktoz, sükroz, glukoz, ferröz sülfat, sodyum klorür, tiyosülfat ve fenol kırmızısı içermektedir. *Salmonella*

cinsi bakteriler TSI besiyerinde dip kısım asit ve H₂S'e bağılı olarak siyah renk oluştururken; yüzey kısmında ise laktoz negatifliğine bağılı olarak kırmızı renk oluştururlar.

Üre agar: Pepton, glukoz, üre, fenol kırmızısı, monopotasyum fosfat, sodyum klorür içerir. *Salmonella* cinsi üreaz enzimine sahip olmadığından üre besiyeri pH asit halde kalır ve besiyeri rengi sarı renkte olur (Procop ve diğ. 2017).

1.7. Klinik Önemi

Salmonella cinsi bakteriler hem barsak hastalıklarına hem de barsak dışı infeksiyonlara sebep olurlar (Harvey ve diğ. 2017).

1.7.1. Gastroenterit

Lokalize bir hastalıktır. Başlıca *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotipleri tarafından oluşturulur. Salmonelloz, kontamine besin ve suyun alınmasından, genelde 48 saat sonra başlayan mide bulantısı ve diyareyle (genelde kansız) karakterizedir. Ateş ve abdominal kramplar sıkça görülür. Sağlıklı kişilerde hastalık kendisiyle sınırlıdır (48-72 saat); ancak, hastalık şifa bulduktan sonra taşıyıcılık bir ya da birkaç ay sürer. *Salmonella* infeksiyonu vakalarının %95'inden fazlası besin zehirlenmesidir. ABD (Amerika Birleşik Devletleri)'de besinle bulaşan infeksiyonlar sonucu ölümlerin yaklaşık %30'u Salmonellozdur (Harvey ve diğ. 2017).

1.7.2. Tifo

Paratifo ateşine *Salmonella* Paratyphi A, B ve C neden olur, semptomları hafiftir ve ölüm oranı düşüktür. Tifo ateşine *Salmonella* Typhi neden olur. Tifo ağır, yaşamı tehdit eden sistemik bir hastalıktır. Ateş ve sıklıkla abdominal semptomlarla karakterizedir. Nonspesifik semptomlar arasında, döküntü, terleme, baş ağrısı, iştahsızlık, halsizlik, boğaz ağrısı, öksürük ve miyalji sayılabilir. Hastaların %30'undan fazlasında gövdede makülopapüler döküntü (kırmızı benekler) görülür. Kuluçka devri 5-21 gündür. Tedavi uygulanmadığında mortalite %15 olur. Hastalığı atlananlarda semptomlar 3-4 haftada kaybolabilir. Zamanında doğru antibiyotik

tedavisi, mortaliteyi %1'e indirir ve ateşin rezolasyonunu hızlandırır. Komplikasyonlar arasında barsak hemoraji ve / veya perforasyonla nadiren, fokal enfeksiyonlar ve endokardit sayılabilir. Hastaların az bir kısmında kronik taşıyıcılık gelişir. İnfekte safra kesesi, kronik taşıyıcılığın en önemli kaynağıdır. Tifo, dünyada sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Fakat ABD'de, tifo daha az sıklıkla görülmektedir. Öncelikle gezginlerin ve göçmenlerin bir hastalığıdır (Harvey ve diğ. 2017) (Scherer ve Miller 2001) (Hu ve Kopecko 2003).

1.7.3. Sepsis ve Lokal Organ Enfeksiyonları

Ağız yoluyla alınan bakterilerin kana geçişi ile bazı organlara yayılımı ile oluşan bir enfeksiyon çeşididir. Bu tip enfeksiyonların gelişmesinde bakterinin serotipi, virülans durumu ve organizmanın o andaki savunma gücünün eksikliği önemlidir. *Salmonellalar* genellikle hasarlı dokuya yerleşme eğilimi gösterirler. Bu tip enfeksiyonlardan en sık izole edilen serotipler *S. Paratyphi C*, *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'tir (Aslan ve diğ. 2001).

1.8. Epidemiyoloji

S. Typhi ve *S. Paratyphi A*, *B* ve *C* serotipleri insanlarda hastalık oluşturur. CDC verilerine göre her yıl ABD'de 1,2 milyon *Salmonella* enfeksiyonu, 23.000 hastaneye yatış ve yaklaşık 450 kişinin ölümü meydana gelmektedir (CDC). Türkiye'deyse Sağlık Bakanlığına laboratuvarlardan yapılan bildirimlere göre yılda 2000-3500 arasında *Salmonella* vakasının olduğu saptanmıştır (Levent 2015). Enfeksiyon gelişmekte olan ülkelerde endemiktir. Bu ülkelerdeki hızlı nüfus artışı, alt yapısı eksik şehirleşme, atıkların sağlıksız koşullarda yapılması, sınırlı temiz su temini ve düzgün çalışmayan sağlık hizmetlerine bağlı olup bu ülkelerin ortak sorunlarıdır. Özellikle bu ülkelerde meydana gelen salgınlar genelde direnç kazanmış suşlarla olduğundan, enfeksiyonda morbidite ve mortalite yüksek olabilmektedir.

Gelişmiş ülkelerde su ve gıda hijyenine verilen önem sayesinde salgınlar pek görülmemekte fakat günümüzdeki yaşam koşulları ve seyahatlerin sıklığı sebebiyle bu ülkelerdeki kişilerde de karşımıza çıkmaktadır. Tropikal bölgelerde yağışlı

mevsimlerde görülen *Salmonella* infeksiyonları ılıman bölgelerde daha çok mayıs ve ekim ayları arasında (yaz ve bahar aylarında) görülür.

İnfeksiyon enterik ateş geçirmiş ya da kronik taşıyıcıyla yakın temasta bulaşabileceği gibi genellikle gıda kaynaklıdır. Özellikle hayvansal gıdalar (kümes hayvanı ürünleri, et, yumurta, çiğ süt) insan ya da hayvan dışkılarıyla bulaş olup, iyi yıkanmamış taze sebze ve meyveler (domates, marul), yer fıstığı, badem, pişmemiş ya da az pişmiş yiyecekler *Salmonella* bakterileriyle kontamine olabilir. Su kaynaklı bulaşta görülmektedir. Su ile olan bulaşta nispeten az sayıda mikroorganizma alındığından gıdayla bulaşa göre kuluçka dönemi daha uzun olur. İnsandan insana doğrudan bulaş nadirdir fakat taşıyıcılık durumu söz konusu olabilir. Günümüzde evde evcil hayvan besleme öyküsündeki artışta evlerde beslenen hayvanlardan (ayrıca vahşi, sıcak veya soğukkanlı hayvanların GIS (gastrointestinal sistem)lerinde, sürüngenler, balıklar, kuşlar ek olarak hayvan yemleri de etken olarak gösterilebilir) bulaş olguları saptanmasına neden olmuştur. Hastane kaynaklı *Salmonella* vakaları ise daha nadir olmakla beraber hastalardan hastane personeline bulaş görülmüştür. Laboratuvar personeline çalışma esnasında bulaş ise laboratuvardan bulaşan bakteriyel etkenler içinde üst sıralardadır (Levent 2010) (Sümerkan 2013).

Ülkemizde bildirim zorunlu hastalıklar sınıfına giren *Salmonella*, Sağlık Bakanlığı tarafından tespit edildiğinde kayıt altında alınmaktadır. *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter*, yetkili makamlara bildirilmesi zorunlu hastalıklar grubuna girmektedirler (Akın ve diğ. 2004). Ayrıca, Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA) kapsamında, seçilmiş merkezlerde farklı klinik örneklerden üretilen *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* suşları Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı'na gönderilmekte ve burada ayrıntılı tanımlama yapılmaktadır (Gülmez ve diğ. 2012).

Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı, Türkiye insan kaynaklı *Salmonella* suşlarının 2000–2002 yıllarında %47'sinin, 2003-2005'te %46'sının ve 2010 yılında %79,4'ünün *S. enteritidis* olduğunu saptamıştır (Levent ve diğ. 2007-2009).

2. CAMPYLOBACTER

Genel olarak insanlarda *Campylobacter*lerin sebep olduğu gastroenteritlerin yaklaşık olarak %95'inden *C. jejuni* ve *C. coli* sorumludur. Fakat gelişmiş ülkelerde ishalleri olgulardan izole edilen *Campylobacter* suşlarının %95'ini tek başına *C. jejuni* oluştururken gelişmekte olan ülkelerde olguların yaklaşık olarak %50'sinden *C. coli* izole edilir (On SLW. 1996). *Campylobacter* en fazla çocukluk ve 15-29 yaş olmak üzere iki farklı yaş grubunda pik yapmaktadır (Blaser ve diğ. 2005).

Campylobacter türleri dünyada yaygın olarak görülen, gastroenterit etkeni olan bir bakteri grubudur. Bu bakterinin geç ve güç üremesi, üretilmesi için özel besiyerleri ve uygun inkübasyon koşullarının sağlanması gibi güçlükler nedeniyle birçok mikrobiyoloji laboratuvarında rutin kültür protokolünde bulunmamaktadır.

*Campylobacter*ler zoonotik özelliğe sahiptirler. Bazı evcil ve yabani hayvanların normal barsak floralarında bulunmakta ve bu hayvanlarda enterik ve genital sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır. İnsanlarda da infeksiyon oluşturmaktadır. Gastroenteritlerin önemli etkenleri arasında *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* türleri yer almaktadır. *Campylobacter* türleri genellikle yaz aylarında ishal etkenleri arasında bazı ülkelerde ilk sırada yer almaktadır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde ishal etkeni olarak *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerden daha çok etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Dışkıdan izolasyonun güç ve zaman alıcı olması nedeniyle insanda infeksiyonun araştırılmasında sorun haline gelmektedir (Blaser ve diğ. 2005) (Murray ve diğ. 1999).

2.1. Tarihçe

*Campylobacter*lerin hayvanlarda gebelik anomalileri ve ishale yol açtığı 20.yüzyılın başından beri bilinmektedir. İlk kez İngiliz veteriner hekimler Mc Fadyean J ve Stockman S. (1909) epizotik düşük yapan koyunların plasentasında *Vibrioya* benzeyen bir bakteri bulduklarını bildirmişlerdir. Bu mikroorganizmayı morfolojik yapıları nedeniyle *Vibrio* cinsi içerisinde değerlendirerek '*Vibrio*

fetus' olarak adlandırmışlardır (Mc Fadyean J ve Stockman 1913). Daha sonra benzer bir mikroorganizma Smith T. (1919) tarafından düşük yapmış bir sığır plasentasından da izole edilmiştir (Smith 1919).

Daha önce Smith'in tanımladığı *Vibrioları*, Jones FS ve arkadaşları (1931), dizanterili sığırların dışkısında tespit etmişler ve *Vibrio jejuni* olarak adlandırmışlardır (Jones ve diğ. 1931). Aynı sene Doyle LP. tarafından dizanterili domuzlardan benzer *Vibriolar* da izole edilmiş, fakat *Vibrio coli* olarak adlandırılmıştır (Doyle LP 1944). Vinzent R. ve arkadaşları (1947) tarafından nedeni bilinmeyen ateş etyolojisiyle hastaneye yatırılan ve daha sonra ikisi ölen üç gebe kadının kanından *V. fetus*'ü tespit edilmiştir. Hayvanlarda görülen enfeksiyonların etiyolojisinde yer alan *Campylobacter*lerin insanlarda da hastalık etkeni olabildiği de gösterilmiştir (Butzler JP ve diğ. 1973) (33). King E.O. (1957) adlı araştırmacıysa bu mikroorganizmaları, ishalleri çocukların kanında göstermiştir, fakat klasik *Vibriolar*dan biyokimyasal ve antijenik yönden farklı olduğu için, bu *Vibrioları* "related vibrio" olarak tanımlamıştır. "*Campylobacter*: kıvrık bakteri" adı altında yeni bir cins olarak adlandırılmasını, Sebald M. ve Veron M. (1963) önermişlerdir. *Campylobacter fetus*'un yer aldığı *Campylobacter* cinsi içerisinde daha sonra *Vibrio jejuni* ve *Vibrio coli*'de dahil edilmiştir (Butzler JP ve diğ. 1973). Skirrow M.B (1977) *Campylobacter*lerin dışkıdan izolasyonunu sağlayan seçici kültür yöntemi geliştirmiştir. Bunun sonucu olarak *Campylobacter* türlerine yönelik çalışmalar hız kazanmış, çok sayıda yeni *Campylobacter* türleri izole edilmiş ve genomik haritaları çıkarılmıştır (Skirrow 1977).

2.2. Sınıflandırma

Campylobacteriaceae familyası içinde bulunan *Campylobacter* cinsi içinde 16 tür ve 6 alt tür vardır. Bunlar da üreme özellikleri, filogenetik yapıları gibi bazı faktörlere göre kendi aralarında küçük gruplara ayrılırlar. Bu familya içinde insanda hastalık yapan *Arcobacter* türleri de bulunmaktadır.

İnsan ve hayvan ishallerinde en çok izole edilen türler arasında; *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* ve *C. helveticus* vardır. Bu mikroorganizmalar içinde üreme ısılarına göre 42°C'de üreyebilen *C. jejuni*

subsp. *jejuni* , *C. jejuni* subsp. *doylei* ,*C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* türleri, termofilik *Campylobacter*ler olarak adlandırılmaktadır (Fitzgerald ve diğ. 2007).

2.3. Yapısal Özellikleri

Campylobacter türleri çeşitli hayvanlarda rezervuar olarak bulunur ve insanlarda infeksiyonlara neden olmaktadır. *Campylobacter*, 0,2-0,9 µm genişliğinde ve 0,5-5 µm uzunluğunda kıvrık, sarmal ya da S şeklinde basillerdir. Gram negatif sporsuz basil ya da kokobasil şeklinde görülmektedir. *Campylobacter* türleri, bir ucunda ya da her iki ucunda tek polar kılıfsız kirpiği sayesinde hareketli bir bakteridir. Fakat kirpiksizde olabilirler. Gram boyamayla hazırlanan klinik örneklerde S şeklinde ya da martı kanadı şeklinde ince kıvrık basiller olarak görülürler (Fitzgerald ve diğ. 2011).

2.4. Üreme Özellikleri

Çoğu *Campylobacter* türleri yaklaşık %5 oksijen, %10 karbondioksit ve %85 nitrojen içeren mikroaerofilik atmosfer koşullarına ihtiyaç duyarlar. Bu ortamı sağlayan ticari paketler geliştirilmiştir. Bu paketler anaerobik kavanozlar ya da kapaklı jarlar içine konularak kullanılabilir (Fitzgerald ve diğ. 2011). Tüm *Campylobacter* türleri 37°C'de ürerler, ancak *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve bazen de *C. upsaliensis* gibi türler 42°C'de de üreyebilirler. Bu özellik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve tanımlanmasında kullanılmaktadır. (Erdem ve diğ. 1999).

2.5. Biyokimyasal Özellikleri

Campylobacter türlerinin tümü oksidaz pozitifdir. *C. upsaliensis* zayıf katalaz pozitif ya da negatiftir. Kalan *Campylobacter* türlerinin tamamı katalaz pozitifdir. Karbonhidratları kullanamadıkları için Voges proskauer ve metil red testleri negatiftir. Jelatini ve üreyi hidroliz etmezler. Lipaz aktiviteleri yoktur. Nitratları redükte ederler (Smibert ve diğ. 2005).

*Campylobacter*lerin identifikasyonunda %1 glisin ve %3,5 NaCl varlığında üreyebilme, TSI agarda H₂S oluşturma, nitrat redüksiyonu, hippuratın hidrolizi ve ısı

tolerans testleri gibi sınırlı sayıdaki fenotipik özellikten yararlanılmaktadır (Smibert ve diğ. 2005) (Tablo 3).

Tablo 3. *Campylobacter* Türlerinin Fenotipik Özelliklerine Göre Tanımlanmaları.

Mikroorganizma	Katalaz	Nitrat	H ₂ S (TSI agar)	Üreaz	İndoksil asetat	Hippurat hidrolizi	Üreme						Duyarlılık		
							25°C	37°C	42°C	MacConkey	1,5 NaCl	% 1,5 Glisin	Nalidiksik asit	Sefalotin	
<i>C. coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	S	D
<i>C. concius</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	R	R
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	d	+	d	+	+	R	S
<i>C. fetus subsp. venaralis</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	R	S
<i>C. hyointestinalis</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	R	S
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	S	R
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	w	na	-	+	+	S	S
<i>C. lari</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	R	R
<i>C. mucosalis</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	D	S
<i>C. sputorum biovar bubulus</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	D	S

+=%90 ve daha fazlası pozitif; -=%90 ve daha fazlası negatif; d=%11-89'u pozitif; w=zayıf reaksiyon; na=veri yok ; R=dirençli ; S=duyarlı; D=değişken

2.6. Genetik Özellikler

Campylobacter jejuni NCTC 11168 suşunun genomik dizi analizi 2000 yılında tamamlanmıştır ve 1700 kb'lık küçük bir genoma sahip olduğu gösterilmiştir (Poly ve diğ. 2005). Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda %19-56 oranında plazmit taşıdığı gösterilmiştir. Plazmitler en çok antimikrobiyal direnç genlerini taşımaktadır. Sekans değişikliğine neden olan bu durumdan tiplendirmede yararlanılmıştır (Schmidt ve diğ. 2005).

2.7. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Duyarlılıkları

Campylobacter türleri cansız ortamda 10 ila 20 gün kadar canlı kalabilirler. *C. jejuni* ve *C. coli* 55°C'de 6 dakika canlı kalabilir. Ancak pH 4,5'in altında olduğu ortamlarda canlılığını kısa sürede yitirirler (Murphy ve diğ. 2003). Steril içme suyunda 4°C'de 64 gün kadar yaşayabilirler (Cools ve diğ. 2003). Mide asidi, enfeksiyonun gelişmesinde önler. Ancak yağlı gıdalar, su ve süt gibi mide asidini azaltan maddeler ile enfeksiyon riski artmaktadır. Hipokloritler, fenoller, iyodoforlar ve dört değerli antimon bileşikleri antimikrobiyal maddeler *C. jejuni* üzerine çok etkilidir ve bu bakteriyi bir dakika içinde öldürebilir. *Campylobacter*ler, makrolid ve kinolon grubu antimikrobiklere genellikle duyarlı; sefalothin, sefoperazon, sefazolin gibi sefalosporin grubu antimikrobiklerle trimethoprim karşı dirençlidirler (Ateş ve diğ. 2005).

2.8. Klinik Önemi

C.jejuni ishal, ateş ve karın ağrısı gibi semptomlarla karakterize akut enfeksiyonlara yol açabilir. Ayrıca *C. jejuni*, reaktif artrit ile Miller-Fisher ve Guillain-Barre sendromları gibi nörolojik komplikasyonlar oluşturabilir (Vinni ve diğ. 2007).

C. fetüs genelde yaşlılarda ve AIDS, kanser, diyabet ve hamilelik durumlarında fırsatçı sistemik enfeksiyonlardan (bakteremi, beyin apsisi, septik tromboflabit) sorumluyken, diyareden daha az sorumludur, ancak diyarenin sistemik bulguları daha fazladır (Kocazeybek 2011). Abdominal ağrı kramp tarzındadır ve hasta sağ alt kadranda ağrı şikayeti ile hekime başvurursa yanlışlıkla apandisit tanısı konabilir ve apendektomi ameliyatı yapılabilir. Ateş vakalarının yaklaşık üçte ikisinde 37.5°C üzerinde, nadiren 40°C üzerinde seyredebilir (Blaser ve ark. 2005).

Campylobacter enteritli hastaların patogenezinde konağın immünitesi de önemlidir.

C. jejuni enteriti immün sistemi baskılanmış hastalarda normal sağlıklı bireylerin oluşturduğu topluma göre kırk kat daha fazla tespit edilmektedir.

Campylobacter gastroenteriti, genelde kendini sınırlayan bir hastalık olarak düşünülmesine rağmen, tedavi edilmeyen olgularda relapslar görülebilmektedir.

Campylobacter enteriti sonrasında bakteriyemi, hepatit, nefrit, peritonit ve miyokardit gibi barsak dışı infeksiyonlar bildirilmiştir (Skirrow ve diğ. 2000).

Antibiyotik kullanımını kronik hastalığı olanlarda, immün sistemi baskılanmış kişilerde, çok küçük veya çok yaşlı olan hastalarla ishal süresi uzamış olan şiddetli vakalarda endikedir (Lindmark ve diğ. 2004). Bu hastalarda *Campylobacter* türleri için mutlaka antibiyogram yapılması gerekir.

2.9. Epidemiyoloji

Campylobacter fetus sığırlarda çoğunlukla çiftleşme, bulaşık suni tohumlama malzemelerinin kullanılmasıyla bulaşmaktadır. Bununla birlikte, insan ve hayvanlara *Campylobacter*lerle bulaşması; fekal yolla, indirekt temas yoluyla, kontamine su ve pastörize edilmemiş sütlerle, iyi pişirilmemiş yiyeceklerle, infekte hayvanlarla direkt temasla veya aile içi geçişle olduğu bildirilmiştir (Hansenvinni ve diğ. 2007).

Gelişmekte olan ülkelere seyahat edenlerde turist diyaresi şeklinde etkin su ve besinlerden alınır (Kocazeybek 2011). Türkiye'de ishali olgularda *Campylobacter* aranması henüz rutin olmamakla beraber, yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde *Campylobacter* izolasyonunun rutin olarak aranan ishal etkeni *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerle kıyaslanabilir oranda yüksek olduğu görülmektedir (Öngen ve diğ. 2007). En fazla yaz ve sonbaharın ilk aylarında görülebilir.

2.10. *Campylobacter* Enfeksiyonlarının Tanı Yöntemleri

2.10.1. Numunelerin Alınması ve Transportu

C. jejuni enfeksiyonu düşünülen hastadan gaita kültürü tercih edilmelidir. Kültür alınma zamanı açısından herhangi bir özellik arz etmemekle birlikte sabah taze gaita örneği alınması daha uygundur (Robinson ve diğ. 1981). Alınan numune iki saat içinde besiyerine ekilmelidir. Hemen ekilemeyecekse taşıma besiyerine alınmalıdır. Gaitanın dondurulması doğru değildir (Jerris ve diğ. 2004). Taşıma besiyeri olarak alkali peptonlu su, tiyoglikolatlı sıvı besiyeri, Campy-Thio, Cary-Blair ve modifiye Cary-Blair besiyerleri denenmiştir. Yapılan çalışmalarla modifiye

Cary Blair besiyerinin *Campylobacter* için en uygun taşıma besiyeri olduğu bildirilmiştir. Alınan örnekler modifiye Cary-Blair besiyerinde +4°C'de saklanmalıdır. *Campylobacter* türleri Carry-Blair taşıma besiyerinde +4°C'de 2 hafta canlı kalabilmektedir (Wang Wen-Lan ve diğ. 1983). Modifiye Carry Blair besiyeri dışında Amies besiyeri, Stuart besiyeri veya kömür tozu içeren yarı katı besiyerleri de taşıma besiyeri olarak kullanılabilir. *Campylobacter*le enfekte hastalar dışkılarında yüksek miktarlarda mikroorganizma bulundurdukları için genellikle ön zenginleştirme yöntemlerine gerek yoktur. Fakat bakteri atılımının az olduğu akut dönemi geçirmiş hastalarda izolasyon şansını artırmak için Preston, Campy-thio gibi zenginleştirici besiyerlerinin kullanılması önerilmektedir (Nachamkin ve diğ. 1999). Hastalardan çoklu örnek alımı izolasyon şansını yükseltmektedir (Winn ve diğ. 2006). *Campylobacter jejuni*'nin izolasyonunda başvurulan bir diğer örnek de kandır. Şimdiye kadar özellikle *C. fetus*, *C. upsaliensis* ve *C. jejuni* kandan izole edilmiştir. Bununla beraber kan kültür sistemlerinin *Campylobacter*'in izolasyonuna uygunluğunu değerlendiren çok az çalışma mevcuttur (Fitzgerald ve diğ. 2007).

2.10.2. Direkt Mikroskopik İnceleme

Campylobacter enteritlerinin olası tanısında dışkı örneklerinin gram boyama ile incelenmesi hızlı ve hassas bir yöntemdir. Örnekler ilk iki saat içinde incelenirse anlamlı olabilir. *Campylobacter* türleri gram boyamada oldukça ince olduklarından dolayı iyi görünmemektedirler. Fakat zıt boya olarak sulu fuksin ya da safranin yerine karbol fuksin ya da %1'lik bazik fuksin kullanılırsa daha net görülmektedir (Fitzgerald ve diğ. 2007). İshalli dışkı örneklerinin gram boyamayla inceleme yönteminin %89 duyarlı olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (Wang ve diğ. 2004). *Campylobacter* enteritlerinin dışkı incelemesinde lökosit ve eritrositler bulunabilmektedir. Çalışmalarda kültür pozitifliği doğrulanan olguların %25 ile %80'inde dışkıda lökosit bulunmuştur. Bu sebeple dışkıda lökosit varlığı tanıya yardımcı olmakla beraber, bulunmaması tanıyı ekarte ettirmez (Fitzgerald ve diğ. 2007). Karanlık alan mikroskobisiyle incelemede tanı amaçlı kullanılabilir. Bu incelemede *Campylobacter*'in tirbuşon tarzında, hızla hareket eden ve batıp çıkan tarzdaki tipik hareketlerinin görülmesi tanıya yardım eder. Bu inceleme ile duyarlılık %36 olarak bulunmuştur (Paisley ve diğ. 1982). Bir diğer direkt inceleme

yöntemiye direkt floresan mikroskopisidir. Hodge ve arkadaşı Lior serotipleme sistemine göre hazırladıkları konjugatlarla boyadıkları dışkı örneklerinde kültüre karşı yöntemin duyarlılığını %40 olarak bulmuşlardır (Hodge ve diğ. 1986).

2.10.3. Kültür Yöntemi ile İzolasyon

Campylobacter türleri geç ve güç üreyen bakterilerdir. *C. jejuni*'yi insan dışkı örneklerinden saptayabilmek için bazı seçici besiyerlerinin kullanımı önerilmektedir. Bu besiyerlerinin en önemli özellikleri, hem dışkı florasını baskılamalı hem de istenen *Campylobacter* türlerini üretmelidir. Bu nedenle metabolizmalarını desteklemek için kan, demir sülfat, kazein, sodyum purivat, hematin ve kömür gibi maddeler kullanılmaktadır. Barsak florasının baskılamak için de basitrasin, kolistin, novobiyosin, sefalotin, vankomisin, trimetoprim, polimiksin B, amfoterisin B, rifampin, sikloheksimid ve sefoperazon gibi antimikrobiyaller kullanılmıştır (Koneman ve diğ. 2006). *Campylobacter* türlerinin üretilmesi için bugüne kadar çok çeşitli seçici besiyerleri geliştirilmiştir. İki çeşit besiyeri önerilmiştir. Bunlar; kan içermeyen CCDA (kömürlü sefoperazon deoksikolat agar) ve CSM (kömür bazlı selektif besiyeri) ile kan içeren Campy-CVA (sefoperazon, vankomisin, amfoterisin), Skirrow ve Butzler besiyerleridir. Campy-CVA besiyerinin izolasyon başarısı yüksektir. Yapılan çalışmalar da bir kan içeren besiyerinin (Campy-CVA) yanında bir kömür içeren besiyerinin de kullanılmasının izolasyon şansını %15 oranında arttırabileceği belirlenmiştir (Fitzgerald ve diğ. 2011).

Campylobacter türleri üremek için mikroaerofilik atmosfer koşullarına ihtiyaç duyar. Bu ortam anaerobik kavanozlarda %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂'lik uygun gaz karışımının oluşturulmasıyla ya da mikroaerofilik inkübatörlerle sağlanır. Fakat günümüzde bazı ticari firmalar yukarıda belirtilen gaz karışımını sağlayan gaz paketleri üretmişlerdir. Anaerobik kavanozlar içine ticari gaz paketleri konularak uygun ortam oluşturulabilmektedir. *Campylobacter jejuni* üretebilmek için 42°C'lik etüvde 48 saat bekletilmesi (Fitzgerald ve diğ. 2007) üreme yoksa 24 saat daha inkubasyona devam edilmesinin izolasyon şansını arttırdığını göstermişlerdir (Endtz ve diğ. 1991).

2.10.4. Kültür Özellikleri ve Biyokimyasal Yöntemlerle Tanımlama

*Campylobacter*ler kanlı agar besiyerinde 24-48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda, 0,3-0,5 mm çapında, su damlası gibi nemli, gri, birbirleriyle birleşmeye meyilli agarın yüzeyine doğru bir tabaka şeklinde üreme gösteren, hemoliz yapmayan tipik kolonileri oluştururlar. Kömür tozu içeren besiyerinde ise; 0,5 mm çapında, grimsi renkte, düz yüzeyli fakat yayılma eğilimi gösteren gözle görülebilir koloniler ortalama 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda şekillenirler (Winn ve diğ. 2006). Bu seçici besiyerlerinde 42°C’de mikroaerofilik koşullarda üreyen oksidaz ve katalaz pozitif gram negatif, kıvrık “S” şeklinde veya martı kanadı görünümünde olan basiller *Campylobacter* spp. olarak tanımlanabilir. Bundan sonra sadece hippurat hidroliz testi önerilir. Bu test bakterilerdeki hippurikaz enzimi yardımıyla sodyum hippuratın parçalanarak benzoik asit ve glisine dönüşümünü ve ninhidrin ayırıcı yardımıyla benzoik asitin renk değişiminin sağlanması prensibine dayanan bir testtir (York ve diğ. 2004).

Eğer hippurat testi pozitif ise *C. jejuni* subsp. *jejuni* olarak raporlanır. Başka bir teste ihtiyaç yoktur. Ancak *C. jejuni* iki alt türe ayrılmaktadır; *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. jejuni* subsp. *doylei*. Yeni tanımlanan bir tür olan *C. jejuni* subsp. *doylei* gastrik epitelyum mukozasından ve ishalleri çocukların dışkı örneklerinden izole edilmiştir. *C. jejuni* subsp. *jejuni*’den en belirgin farkı nitratı indirgememesidir (Rautelin ve diğ. 1999). Termofilik *Campylobacter* türlerinin tanımlanmasında kullanılan bazı testler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İdentifikasyonu.

	C. jejuni		C. coli	C. lari	C. upsaliensis
	subsp.jejuni	subsp.doylei			
Hippurat hidrolizi	+	+	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	-/W
Nitrat redüksiyon	+	-	+	+	+
TSI agarda H ₂ S üretimi	-	-	-/W	-	-
Sefalotin direnci	R	V	R	R	S

W: zayıf reaksiyon ; V: değişken ; S: duyarlı ; R: dirençli

2.10.5. Moleküler Yöntemlerle Tanımlama

Campylobacter türlerini tanımlamada kültür altın standart olarak kabul edilmek ile beraber 24 saatten daha kısa zamanda tür düzeyinde tanımlayan, yüksek

duyarlılığa sahip yöntem olarak moleküler teknikler kullanılmaya başlanmıştır. Daha az zaman alması nedeniyle tercih edilen bu teknikle, en çok real-time PCR ve multiplaks PCR kullanılmıştır (Schuurman ve diğ. 2007) (Persson ve diğ. 2005). Yapılan çalışmalarda bu yöntemlerin arasında farklılıklar olmasına karşın, $10^2 - 10^3$ bakteri varlığını saptayacak derecede duyarlı oldukları bildirilmiştir. Bu yöntemlerin en önemli dezavantajları, pahalı olması, dışkıda PCR inhibitörlerinin bulunabilmesi ve genetik farklılıkların tespitinde güçlükler neden olmasıdır (Lin ve diğ. 2008). Moleküler tanı yöntemleriyle *Campylobacter* türlerinin genom düzeyinde tanımlanması ve tiplendirilmesinin yanı sıra, patogenez ve antimikrobik direncinden sorumlu genler ve gen mutasyonlarının tespiti de mümkün olabilmektedir (Karenlampi ve diğ. 2004).

2.10.6. Dışkıda Antijen Arayan Testler

*Campylobacter*lerin hızlı tanısında hasta başı testler olarak da tanımlanan, dışkıda *Campylobacter* antijenlerini araştıran, ProSpecT *Campylobacter* enzim immunoassay (*Campylobacter* EIA) Campyslide sistem, Meritec-Campy ve Microscreen gibi presipitasyon temelli çok sayıda ticari test geliştirilmiştir. Direkt dışkı örneklerinin yanı sıra zenginleştirici besiyerindeki dışkı örneklerinin de değerlendirilebildiği *Campylobacter* EIA testinde, *Campylobacter*lerin iki yüzey antijenine karşı geliştirilmiş poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Campyslide testiyle dışkı örneklerinden antijen tespitinde, *Campylobacter*lerin hücre duvar antijenlerine karşı üretilmiş antikampilobakter antikorlarıyla kaplı lateks partikülleri kullanılmaktadır. Meritec Campy testindeyse latex partiküllerinin sensitizasyonunda flagellar antijene karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılmaktadır. Ancak bu testlerden hiçbirinin duyarlılığı kültür yöntemi kadar yüksek değildir (Tolcın ve diğ. 2000) (Hındıyeh ve diğ. 2000).

2.11. Tedavi

Campylobacter türlerinin çoğu penisilin ve sefalosporinlere doğal dirençli olduğu için beta laktamlar tedavide pek tercih edilmemekte, makrolid ve kinolon grubu antibiyotikler sık kullanılmaktadır

(Crushell ve diğ. 2004). Eritromisin ishal tedavisinde ilk seçenek ilaç olmuştur (Blaser ve diğ. 2005). Genişletilmiş etki spektrumlu makrolidlerden olan azitromisin ve klaritromisinde benzer etkiye sahiptir. Azitromisin için yapılan bir çalışmada hem hastalık süresini hem de *Campylobacter*'in dışkıya salınım süresini kısalttığı bildirilmiştir (Kuschner ve diğ. 1995). Alternatif olarak florokinolonlar kullanılmaya başlanmış, sonrasında dirençli suşlar ortaya çıkmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda 1987'den itibaren *Campylobacter*'lerde kinolon direncinin giderek arttığı ve son yıllarda %50'lere ulaştığı bildirilmiştir (Engberg ve diğ. 2004) (Başustaoğlu ve diğ. 2001). Bir diğer alternatif olan tetrasiklin grubu ilaçlardır. Bu grupta da direnç %25 civarındadır (Allos ve diğ. 2004) (Alfredson 2007).



3. SHIGELLA

3.1. Tarihçe

Shigella, 1898'de Japonya'da Shiga ve 2 yıl sonra öncekinden habersiz Almanya'da Kruse tarafından bulunmuş ve o zamanlar Shiga-Kruse basili, bugün *Shigella dysenteriae* adıyla anılan bakterilerdir. Ardından 1900'lü yılların başında Flexner Filipinler'de bugün *Shigella flexneri* diye adlandırılan bakteriyi, 1904'de Duval sonra Sonne bugün *Shigella sonnei* denilen basili, 1917 Shmitzanya'daki esir kamplarında *Shigella ambigua* diye adlandırılan bugünkü *Shigella schmitzii* bakterisini bulmuşlardır. Daha sonra birçok araştırmacı çeşitli sürgün olgularında görünüm, biyokimyasal özellik ve antijen bakımından benzer bakteriler saptamışlardır (Mutlu ve diğ. 1999) (Bilgehan 2000) (Topçu ve diğ. 2002).

3.2. Morfoloji, Üreme ve Boyama Özellikleri

Shigella organizmaları gram negatif, fakültatif anaerobik, 2-4x0,6 µm boyutlarında, düz çomak şeklinde, flagellaları olmayan basillerdir. Genel kullanım besiyerlerinde kolay ürerler. Buyyonda homojen bulanıklık, jelozda yuvarlak hafif kabarık, düzgün yüzeyli, saydam ve *E. coli* kolonilerine benzer koloniler oluştururlar. *S. sonnei*'nin kolonileri biraz daha büyüktür ve sıklıkla koloni varyasyonları (S-R-Bomba koloniler) gösterirler. Optimal 37°C'de üreselerde, üredikleri sıcaklık sınırları geniştir ve 8-40°C arasında değişiklik göstermektedir (Bilgehan 2000) (Mahon 2000). *E. coli* ile ortak biyokimyasal özellikleri (Tablo 5) olmasına rağmen, laktozu 24 saat içinde fermente edememeleri, bazı nadir serotipler hariç glukozdan gaz oluşturmamaları ve hareketsiz olmaları ile *Shigellaların* hemen tüm *E. coli* türlerinden ayrılması mümkündür (Bilgehan 2000) (Keusch 1998). *E. coli* ve *Shigellaları* birbirinden ayırmak için çeşitli biyokimyasal özellikler kullanılabilir (Tablo 5).

Tablo 5. *Shigella spp.* ve *E. coli*'nin Ortak Biyokimyasal Özellikleri .

Test	Sonuç
Metil-red	+
Voges-Preskauer	-
TSI agarda hidrojen süfür oluşumu	-
Üre hidrolizi	-
Fenilalanin deaminaz	-
Potasyum siyanidde (KCN) üreme	-
Malonat kullanımı	-
Mannitol fermentasyonu	+*
Adonitol fermentasyonu	-
İnozitol fermentasyonu	-
Mukat fermentasyonu	D**
Dnaz	-

*S. dysenteria hariç **D : Değişken

Tablo 6. *Shigella spp.* Ve *E. coli*'nin Ayrımında Kullanılan Biyokimyasal Özellikleri.

Test	Shigella spp	%	E.coli	%
İndol	D	38	+	99
Sitrat	-	0	D	24
Lizin dekarboksilaz	-	0	+	90
Arginin dekarboksilaz	-	8	D	17
Ornitin dekarboksilaz	D	20	+	63
Motilite	-	0	+	80
Glukozdan gaz	-	<2	+	91
Laktoz fermentasyonu	-	<1	+	91
Sükroz fermentasyonu	-	<1	+	50
Salisin fermentasyonu	-	0	+	40
Ksiloz fermentasyonu	-	2-5	+	95
Mukat fermentasyonu	-	0	+	92
Eskülin hidrolizi	-	0	D	31
Asetat kullanımı	-	0	+	84

D: Değişken

Shigellalar kemorganotrofik yani hem solunumsal hem de fermentatif tipte metabolizmaları olan organizmalardır. Oksidaz negatiftirler. *Shigella dysenteriae* tip 1 ve birkaç *S. flexneri* serovarı dışında katalaz pozitiflerdir. Metil red pozitif, Voges-Proskauer ve Simmons sitrat negatiftirler. Hidrojen sülfid üretmezler, üreyi hidrolize etmezler ve malonatu kullanmazlar. Potasyum siyanür (KCN) buyyonda üreyemezler (Bilgehan 2000) (Holt 1994).

3.3. Antijenik Yapı ve *Shigella* Tipleri

Shigella, mikrobiyoloji dernekleri uluslararası birliği *Shigella* alt komitesince, biyokimyasal ve antijen özelliklerine bakılarak sınıflandırılmıştır. *Shigella* cinsi A, B, C, D olarak dört major O antijenik gruba ayrılmaktadır. Bu ayırmda özellikle mannitol üzerine etki ve antijen özellikleri ön planda tutulmaktadır. Major O antijenlerinin yanında, A, B, C grupları minör O antijenleri de vardır. Serolojik tiplendirme O antijenlerine göre yapılmaktadır (Tablo 6). *S. sonnei*'nin farklı serotipleri bulunmamaktadır. Tüm *Shigella* türleri epidemiyolojisi, mortalite oranları ve oluşan hastalığın ağırlığı farklı olmakla birlikte dizanteriye yol açabilirler (Mahon 2000) (Keusch 1998).

A sero alt grubunda 12 serovar bulunur. 3, 4, 5, 6 ve 7 serovarlarında arabinoza geç etki etmelerinden dolayı *Shigella arabinotor* diye de adlandırılmakta olup, *Shigella dysenteriae* adı verilmektedir.

B sero alt grubunda, genellikle mannitolü parçalayan ve antijen bakımından bazı özellikleri ortak olan birbirleriyle yakınlık gösteren bakteriler vardır. Bu gruba bugün *Shigella flexneri* adı verilmekte olup, 6 serovar bulunmaktadır.

C sero alt grubunda ise genellikle mannitolu fermante eden, kesin antijen özellikleri bulunan 18 serovar bulunmakta olup, bu gruba *Shigella boydii* adı verilmektedir.

D sero alt grubunda ise yalnızca bir tek bakteri olup laktoza geç (3-8 gün) etki etmesi ve bazı özellikleri ile *Esherichiae*'lara benzerlik göstermekte ve bu grupta *Shigella sonnei* diye adlandırılmaktadır (Bilgehan 2000) (Topçu ve diğ. 2002).

Tablo 7. *Shigella* Tür ve Serotiplerinin Dağılımı.

Tür	Serogrup	Serotip
<i>S.dysenteriae</i>	Serogrup A	1-15
<i>S.flexneri</i>	Serogrup B	1-8
<i>S.boydii</i>	Serogrup C	1-19
<i>S.sonnei</i>	Serogrup D	1

Bazı suşlar K ya da kapsül antijenleri içerir, ancak serolojik tiplendirme için kullanılmazlar. Fakat bu antijenlerin varlığı, O antijeninin serolojik reaksiyonlarını engelleyebilmektedir. Bu durum serolojik tiplendirme öncesi hücre süspansiyonunun kaynatılmasıyla ortadan kaldırılabilir. B grubunun 1-5. serotiplerinde fimbria gösterilebilmiştir, fakat tip 6 ve diğer *Shigella* tiplerinde bulunmamaktadır. Gösterilen tüm fimbria antijenleri immünolojik olarak eşittir. Tüm *Shigellalar* hareketsiz olduğu için H antijenleri bulunmamaktadır (Mahon 2000) (Keusch 1998) (Joklik 1992). Diğer tiplerden farklı olarak, *S. sonnei*'nin faz I ya da form I olarak da bilinen S formu, *Plesiomonas shigelloides*'te de bulunan bir O antijen zinciri içerir. Bu zincir, $\alpha(1-4)$ bağları ile birbirine bağlı 2-asetoamido-2-deoksi-L-altruronik asit ve 2-asetamido-4-amino-2,4,6-trideoksi-D-galaktoz disakkarit rezidülerinin, $3(1-3)$ bağları ile tekrarlanmaları ile oluşur (Lindberg ve diğ. 1991). *Shigella* türleri bazı özellikleri ile birbirlerinden ayrılabilirler (Tablo 8).

Tablo 8. *Shigella* Türlerinin Biyokimyasal ve Serolojik Ayrımları.

Test	<i>S.dysenteriae</i>	<i>S.flexneri</i>	<i>S.boydii</i>	<i>S.sonnei</i>
Serogrup	A	B	C	D
İndol	D	d	d	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	+
ONPG	D	-	d	+
Karbonhidrat fermentasyonu				
Mannitol	-	+	+	+
Rafinoz	-	d	-	-
Sükroz	-	-	-	-
Ksiloz	-	-	d	-

-, <%9 suş pozitif, d: %10-89 suş pozitif, +: >90 suş pozitif

3.4. Virulans ve Patogenite Özellikleri

Shigellaların yüzey antijenleri, toksinleri ve dokuya yayılabilme özellikleri bulunmaktadır (Aslan ve diğ. 2001). *Shigellaların* konakçının savunma ile ilgili bariyerlerini geçebilmesi O antijenlere bağlı olabilir. Düzgün (S) koloni oluşturan (faz I koloni) suşlarındaki LPS yapısı önemlidir. Bu yapı *S. flexneri*, *S. sonnei* suşlarında gösterilmiştir (Serter 1997) (Kılıçturgay 1994). Bazı *Shigella* suşları (özellikle *S. flexneri* tip 1 suşları) shiga toksin denen bir ekzotoksin salgılayabilir. Bu

toksin küçük deney hayvanlarına enjekte edildiğinde felçler oluşturur ve doku kültüründe sitotoksik etki yapar. Shiga toksini salgılayan *Shigella dysenteriae* tip 1 suşlarına geçmişte Shiga basili adı verilmiştir. Özellikle bu suşlar ciddi, ağır infeksiyonlara yol açması sebebiyle patlayıcı salgınlar ve pandemilere yol açmıştır (Ustaçelebi 1999).

3.5. Biyokimyasal Özellikler

Glikozdan asit yaparlar, genellikle gaz yapmazlar, laktoz ve sükroz genellikle olumsuzdur. Mannitol üzerindeki etkileri gruplara göre ayrılır. Mc-Conkey ve EMB besiyerlerinde 24 saatte renksiz (laktoz olumsuz) koloniler yaparlar. SS agarda renksiz bazen ortaları siyah noktalı, XLD agarda renksiz, Hektoen agarda yeşil-mavi koloniler oluştururlar. Laktoza etkisizdirler. *S. sonnei* 3-8 günde laktozu parçalayabilir. Glikozu yalnız asit yaparak fermante ederler, gaz yapmazlar, sükrozu parçalamazlar. İMVİC testlerinde indol değişken, metil kırmızısı olumlu, Voges Proskauer olumsuz olup sitratı kullanmazlar ve üreaz oluşturmazlar. TSI besiyerinde dipte asit, yatık kısımda alkali reaksiyon gösterirler, H₂S ve gaz oluşturmazlar. LIA besiyerinde ise dipte asit, yatık kısımda ise alkali reaksiyonu verir ve H₂S yapmazlar (Ustaçelebi 1999).

3.6. Patogenez

Salmonella türü bakterilerden bir kısmı (*S. typhi*) yalnız insanlarda, bir kısmı hem insan hem de hayvanlarda (*S. typhimurium*) hastalık yaparken, *Shigella* türü bakteriler bazı yüksek maymunlar dışında insanlar için patojendirler (Mutlu ve diğ. 1999) (Akbarut 1997). *Shigella* türü bakteriler sağlıklı kişiler tarafından kirli su ve yiyeceklerle alınırlar, mide asidine duyarlıdır fakat bol besin maddesi ve içeceklerle alındıklarında, mide asidinden etkilenmeden mideyi geçebilirler. *Shigellalar* barsak epiteline penetre olurlar (Ustaçelebi 1999).

3.7. Klinik

Sulu diyare ve ateşi olan hastalarda şigellozdan şüphelenilmelidir. Enfeksiyonun diyare safhası klinik olarak diğer bakteriyel, viral ve protozoona bağlı enfeksiyonlardan ayırt edilemez. Bulantı ve kusma *Shigella* diyaresine eşlik edebilir ancak bu semptomlar nontifoidal *Salmonella* ve enterotoksijenik *E. coli* enfeksiyonları sırasında da gözlenmektedir. Kanlı, mukuslu gaitalar şigellozu kuvvetle işaret eder fakat ayırıcı tanıda EIEC (Enteroinvaziv *E. coli*), *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* türleri ve *Entamoeba histolytica* mutlaka düşünülmelidir. Amebiyazisli hastaların gaitalarında her ne kadar kan görülmesi olağansada, genellikle *Shigella*'da olduğu gibi açık kırmızı olmaktan ziyade koyu kahverengidir. Şigelloz hastasının sigmoidoskopik muayenesinde diffüz eritematöz mukozal yüzey, küçük ülserler görülürken, amebiyaziste jeneralize enflamasyon yoktur ve aralıklı ülserlerle karakterizedir (Kaygusuz ve Töreci 2011).

3.8. Gastroenterit

Shigella bakterileri sadece insanlarda ve ince bağırsağın son kısmı ve kalın bağırsakta hastalık oluştururlar. Kana veya diğer organlara yayılmazlar. Basilli dizanteride, kuluçka süresi 1-7 gün arasında değişir. Klinik belirti veren olgularda hastalık baş ve karın ağrıları, titreme, ateş ile başlar. Kataral dizanteri denen hafif seyreden olgularda hasta günde 3-5 defa sulu dışkı çıkarır. Toksik dizanteri denen daha ağır seyirli olgularda dışkılama 20 defaya kadar çıkabilir. Kalın bağırsak mukozasında yüzeysel lezyonlar meydana gelir. Kolon ve sigmoid ele gelebilir ve ağrılıdır. Hastada spazm tarzında karın ağrıları, ıkıntı, tenezm vardır. Çocuklarda konvülsiyonlar oluşabilir. Dışkı kanlı ve mukusludur. Bazen hastada dehidratasyon meydana gelebilir. Şigelloz salgınlarından en sık izole edilenler *S. Sonnei* ve *S. Flexneri*' dir.

Basilli dizanteri küçük çocuklarda ve yaşlılarda daha ağır seyreder. Hastalık genellikle 3-4 günle 15 gün arasında seyreder. Yeterli tedavi edilmeyenlerde hastalığın kronikleşerek daha uzun sürdüğü görülebilir. Kronik olgularda dışkıdan kan ve mukus kaybolabilir. Bazı kimselerde ise ülseroz kolit oluşabilir. Ayrıca hastalığın 2-4. haftalarında konjunktivit, uretrit ve artritten oluşan Reiter sendromu,

toksinlere bağlı kısa süreli paraliziler ve poliartiküler romatizma şeklinde seyreden alerjik dizanteri romatizması gibi komplikasyonlar meydana gelebilir. Özellikle çocuklarda görülebilen önemli bir komplikasyon da hemolitik-üremik sendromdur (Kaygusuz ve Töreci 2011).

3.9. Tedavi

Shigelloz tedavisinde ilaç direnci nedeni ile seçenekler her geçen gün sınırlanmasına rağmen birçok antibiyotik etkili olabilmektedir. Dünya çapında sülfonamidler, tetrasiklinler, ampisilin ve trimetoprim-sulfametoksazole karşı ortaya çıkan direnç nedeniyle bu ajanlar ampirik tedavide tavsiye edilmemektedir. Florokinolonlar ise tedavideki yerini korumaktadır (Parlak ve diğ. 2012).

4. MATERYAL METOD

4.1. Kültür Ortamının Hazırlanması

4.1.1. Kullanılan Besiyerleri

Modifiye Carry-Blair Besiyeri

Bu besiyerinin içeriğinde Sodyum tioglikolat 1,5 gr., Na₂HPO₄ 1,1 gr., NaCl 5 gr., Agar 1,6 gr., Distile su 991 ml bulunmaktadır. Besiyerinin pH değeri 7,4 dir. Besiyerleri ticari olarak temin edildi. Kullanılıncaya kadar +4°C’de saklandı.

Salmonella Shigella Agar

Salmonella ve *Shigella* türlerinin izolasyonu için seçici besiyerleri kullanılmaktadır. Bu besiyerinin içeriğinde brilliant yeşili, safra tuzları, tiyosülfat ve sitrat bulunur ve *Salmonella* ve *Shigella* dışı flora bakterilerinin üremesini engeller. Hidrojen sülfür oluşumu tiyosülfat ve demir iyonları ile ortaya konur: Koloni görünümleri merkezi siyah renkli S tipi koloniler şeklindedir. Renksiz-yarı saydam (laktoz negatif) koloniler *Shigella* ve pek çok *Salmonella* türü için tipiktir. Bazı *Salmonella* türleri siyah merkezli yarı saydam koloni oluştururlar. Bu besiyerinde *Salmonella* kolonilerinin *Shigella* kolonilerinden ayrımı besiyerinde koloni etrafındaki renk değişiminin *Salmonella*'da sarı, *Shigella*'da kırmızı olması ile yapılmaktadır. Piyasadan hazır besiyeri olarak temin edildi. Kontaminasyon kontrolü yapıldıktan sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda buzdolabında +4°C’de saklandı.

Kanlı Agar (Acumedia Lab M, Neogen culture media)

Toz besiyeri 49 g/L olacak şekilde balon jojeye konularak saf su ile 1000 ml’ye tamamlandı ve ısıtılarak çözünmesi sağlandı. Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. 45-50°C’ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 50 ml eklenerek karıştırılıp petrilere dağıtıldı.

EMB Agar (Acumedia Lab M, Neogen culture media)

Toz besiyeri 37,5 g/L olacak şekilde balon jojeye konularak üzeri saf su ile 1000 ml’ye tamamlandı ve ısıtılarak çözünmesi sağlandı. Otoklavda sterilize edilerek 45-

50°C'ye kadar soğutuldu ve sonra petri kutularına uygun miktarda konularak katılaşması sağlandı.

Selenit F Suyu

4 gram B bölümü 1000 ml saflaştırılmış damıtılmış su içinde süspansiyon haline getirilmiş ve 19 gram A bölümü eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Karışım tamamen çözünmesi için ısıtıldı, ardından steril test tüplerine dağıtıldı. Daha sonra kaynar su banyosunda 10 dakika sterilize edildi.

Bölüm A

Tripton	5 g / L
Laktoz	4 g / L
Sodyum fosfat	10 g / L

Bölüm B

Sodyum hidrojen selenit	4 g / L
Nihai pH	7 ± 0.2.

TSI Besiyeri (Triple sugar iron agar)

Toz besiyeri 60 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve ısıtılarak çözdürüldü. Otoklavda sterilize edildi, 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra cam tüplere 3 ml şeklinde dağıtıldı ve yatık halde bırakıldı.

Campylobacter Agar

Piyasadan hazır besiyeri olarak temin edildi. Kontaminasyon kontrolü yapıldıktan sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda buzdolabında +4°C'de saklandı.

Mueller Hinton Agar

Piyasadan hazır besiyeri olarak temin edildi. Kontaminasyon kontrolü yapıldıktan sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda buzdolabında +4°C'de saklandı.

4.1.2. Ayıraçların Hazırlanması

Oksidaz Ayıracının Hazırlanması

Toz halindeki tetramethyl-p-phenylendiamine dihydrochloride'den 50 mg. hassas terazide tartıldı. Üzerine 5 ml. steril distile su ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra küçük kapaklı ışık görmeyen plastik tüplere konuldu. Buzdolabında +4°C'de saklandı.

Katalaz Ayıracının Hazırlanması

Hidrojen peroksit çözeltisinden 0,3 ml alındı. Üzerine 9,7 ml steril distile su ilave edildi. Hazırlanan solüsyon küçük kapaklı plastik tüpe konuldu.

Hippurat Solüsyonunun Hazırlanması

1,0 gr. hippurik asit 100 ml. distile su içinde eritildi. Hazırlanan solüsyondan steril mikrosantrifüj tüplerinin içine 0,4 ml. konuldu ve -20 °C'de saklandı.

4.1.3. Antiserumlar

Polivalan A-S +Vi antiserumu (SSI Diagnostica, Danimarka): İçeriği; somatik O antijenleri: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21,22, 23, 24, 25, 27, 28, 30, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 46 + Vi antijenleri *Salmonella* Sero-Quick Group kiti antiserumları (SSI Diagnostica, Danimarka):

Kit içeriği;

Serogrup	O Antijenleri
A	O:2
B	O:4
C	O:7 ya da O:8
D	O:9 ya da O:9,46 ya da O:9,46,27
E	O:3,10 ya da O:1,3,19
F	O:11
G	O:13
Vi	Vi antijeni

4.1.4. Antibiyotik Diskleri (Bioanalize, Türkiye)

Tablo 9. Antibiyotik Disk Listesi.

Antibiyotik Disk İsimleri	Miktar	Kısaltmaları
Ampisilin	10 µg	AM
Seftriakson	30 µg	CRO
Siprofloksasin	5 µg	CIP
Trimetoprim-sülfametoksazol	1,25-23,75 µg	SXT
Eritromisin	15 µg	E
Tetrasiklin	30 µg	TE

4.2. Örneklerin Seçimi

Çalışmamıza 01.11.2019 - 01.04.2020 tarihleri arasında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine ishal yakınması ile başvuran ve dışkı kültürü istenen 400 hastaya ait dışkı örneği dahil edildi. Hasta örneklerinin seçiminde yaş ve cinsiyet kriterleri uygulanmamıştır. 400 örneğin tamamına dışkı kültürü ve beraberinde PCR testi çalışıldı.

4.3. Mikroskopik İnceleme

Laboratuvara gelen taze dışkı örneklerinin metilen mavisi ile boyanarak mikroskopik incelemede lökosit içerip içermediği araştırılmaktadır. Kültürde veya PCR testinde *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. ya da *Shigella* spp. saptanan numunelerin sistemden retrospektif olarak gaita direkt mikroskopi sonuçları incelenerek lökosit birlikteliği açısından değerlendirilmiştir.

4.4. Örneklerin Kültür Plaklarına Ekimi ve Tanımlanması

Dışkı örneğinden direkt ya da transport besiyerinden alınan örnek; temel ve seçici besiyerlerine ekilmiştir. Her örnek için ayrı plak yüzeyine (plağı bölmeden) ve tek koloni ekimi yapılmıştır. İlk önce dışkı örneği eküvyon ile besiyerinin üst ¼'üne sürülmüş ve daha sonra plağın geri kalan kısmına azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır.

***Campylobacter* spp. Tanısı**

Dışkı örneklerinden *Campylobacter* spp. izolasyonu için *Campylobacter* Agar kullanıldı. Dışkı örnekleri bu besiyerine ekildikten sonra, 42°C'de mikroaerofilik ortamda 72 saat inkübe edildi. Kırmızı koloniler seçilerek gram boyama, oksidaz ve katalaz testi uygulandı. Gram boyamada gram-negatif, martı kanadı, spiral şekilli, S ve virgül görünümünde olan, katalaz ve oksidaz testleri pozitif olan bakterilerin tümü termofilik *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı. Bu izolatlardan hippurat hidroliz testi pozitif olanlar *C. jejuni* olarak kabul edildi.

***Salmonella* spp. Tanısı**

Dışkı örnekleri %5 Koyun Kanlı agar, EMB agar ve ön zenginleştirme işlemi için Selenit F besiyerine ekim yapıp 24 saat 37°C'de etüvde bekletildi. Şüpheli kolonilerden *Salmonella* spp. izolasyonu için *Salmonella-Shigella* agara pasaj yapıldı. Örneklerin besiyerine ekilmesinden sonra, kültürler 37°C'de aerofilik ortamda 48 saat inkübe edildi. Laktoz negatif koloniler seçilerek TSI agara ekilip, üreaz testi uygulandı. TSI agarda Asit/Alkali görüntü oluşturup H₂S üretimi gözlenen, üreaz testi negatif olan izolatlar *Salmonella* spp. olarak tanımlandı.

***Shigella* spp. Tanısı**

Dışkı örnekleri %5 Koyun Kanlı agar, EMB agar ve ön zenginleştirme işlemi için Selenit F besiyerine ekim yapıp 24 saat 37°C'de etüvde bekletildi. Şüpheli kolonilerden *Salmonella* spp. izolasyonu için *Salmonella-Shigella* agara pasaj yapıldı. Örneklerin besiyerine ekilmesinden sonra, kültürler 37°C'de aerofilik ortamda 48 saat inkübe edildi. Laktoz negatif koloniler seçilerek TSI agara ekilip, üreaz testi uygulandı. TSI agarda Asit/Alkali görüntü oluşturup H₂S üretimi gözlenmeyen, üreaz testi negatif olan izolatlar *Shigella* spp. olarak tanımlandı.

Tür Tanımlama

Konvansiyonel yöntemlerle *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. olarak tanımlanan koloniler tür tayini için Vitek MS (Biomérieux, Fransa) otomatize cihazı ile değerlendirildi. *Campylobacter* şüpheli kültürlerin yapılan subkültürlerinden elde edilen saf kolonilerinden steril 1µl'lik tek kullanımlık öze ile alınarak Vitek MS slayt kuyucuğuna uygun olarak yayıldı. Daha sonra kuyucuk üzerine 1µl matriks solüsyonu ilave edilip kurumaya bırakıldı. Hazırlanan slayt tanımlama işlemi için cihaza konuldu.

4.5. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Disk Difüzyon Yöntemi

EUCAST kılavuzu *Campylobacter* türleri gibi geç ve güç üreyen bakteriler için antibiyotik duyarlılık çalışılmasında mikrodilüsyon veya disk difüzyon yöntemini, disk difüzyon yöntemiyle çalışılırken de besiyeri olarak 20 mg/L β-NAD eklenmiş %5 at kanlı MHF (Mueller Hinton Fastidious) agar besiyerinin kullanılmasını önermektedir. Bu doğrultuda çalışmamızda disk difüzyon yöntemi kullanıldı.

Campylobacter spp. için EUCAST kılavuzunda çalışılması önerilen 3 antibiyotik test edildi. Bu amaçla eritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin (Oxoid, Hampshire, İngiltere) diskleri kullanıldı.

Salmonella spp. ve *Shigella* spp. için ampislin, seftriakson, siprofloksasin, trimetoprim-sülfametoksazol diskleri kullanıldı.

Plaklar 35±1°C' de, 18±2 saat etüvde inkübe edildi.

İnhibisyon zon çapları ölçülerek EUCAST standartlarına göre duyarlı veya dirençli olarak değerlendirildi (EUCAST).

4.6. Real-time PCR Yöntemi

DNA Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon aşaması

Öncelikle Isıtıcı Kuru Blok 95°C'ye ayarlandı. Dışkı katıysa bezelye tanesi büyüklüğünde, sıvıysa pipetle 100 µL, içine 1 mL STL-B konulmuş 2.0 mL'lik "Dışkı Ön İşlem Tüpü"ne koyuldu. Kapağı sıkıca kapatıldı. 30 saniye maksimum şiddette vurum vorteks ile karıştırıldı. Gerekli görülen dışkı süspanse olana kadar vorteks süresi uzatıldı. 95 °C'de 5 dakika ısıtıldı. Ardından 5 dakika 14.000 g'de santrifüjlendi. Oluşan süpernetantın 465 µL'si, tüp yüzeyindeki yüzen tortulardan alınmadan, 20 µL CRNA, 35 µL 11X PEGN koyulmuş Örnek Tüpüne pipetlendi. 510 µL olan Örnek Tüpü RINA™ M14'e yüklemeye hazır hale getirildi. Ardından RINA™ Robotik Nükleik Asit Ekstraksiyon Kitlerini RINA™ M14 cihazına yerleşimi yapıldı.



5. BULGULAR

Namık Kemal Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Kasım 2019 - Nisan 2020 tarihleri enfeksiyon ya da gastroenterit düşünülen hastalardan gönderilen/verilen 400 gaita örneği değerlendirildi.

Kültür Ekim Sonuçları

Laboratuvarda incelenen 400 dışkı örneğinin kültür ekimi sonucunda

- 10 (%2,5)'unda *Campylobacter* spp. ürettiği görüldü.
- 4 (%1)'ünde *Salmonella* spp. ürettiği görüldü.
- Hiçbir kültür örneğinde *Shigella* türü bakteri üremediği görüldü.

Tür Tanımlama Sonuçları

Vitek MS cihazında tür tanımlamada

- *Campylobacter* spp. üreyen 10 kültür örneğinin 4 (%1)'ünde *Campylobacter jejuni*, diğer 3 (%0,75)'ünde ise *Campylobacter coli* olarak tespit edildi. 3 (%0,75) örnekte ise cihaz tür ismi veremedi.
- *Salmonella* spp. üreyen 4 kültür örneğinin 2 (%0,5)'si *Salmonella enteritidis*, 2 (%0,5)'si *Salmonella typhimurium* olarak tespit edildi.
- *Shigella* spp. hiç saptanmadı.

PCR Sonuçları

PCR ile değerlendirilen 400 dışkı numunesinin 33 (%8,25)'ünde *Campylobacter* spp., 5 (%1,25)'inde *Salmonella* spp. varlığı tespit edildi. Numunelerde *Shigella* spp. tespit edilmedi.

- Kültürde  reme saptanan 12 numunenin tamamında PCR testinde de pozitif sonuç alındı. 26 numunede ise kültürde üreme saptanmayıp sadece PCR testinde *Campylobacter* spp. veya *Salmonella* spp. tespit edildi. Toplam 38 numunede kültür ve/veya PCR testinde pozitif sonuç görüldü. Bu 38 numunenin kültür ve PCR sonuçları

	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	Toplam
Kültür	10 (%2,5)	4 (%1)	14 (%3,25)
PCR	33 (%8,25)	5 (%1,25)	38 (%9,5)

- Kültür ve/veya PCR testinde pozitif sonuç görülen 38 numunenin 9'unda (%23,7) dışkının mikroskobik incelemesinde lökosit saptanmıştır. Bu 9 numunenin kültür ve PCR sonuçları

	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	Toplam
Kültür	2 (%0,5)	1 (%0,25)	3 (%0,75)
PCR	9 (%2,25)	0	9 (%2,25)

- Kültür ve/veya PCR testinde pozitif sonuç görülen 38 numunenin 29'unda (%76,3) dışkının mikroskobik incelemesinde lökosit saptanmamıŐtır. Bu 29 numunenin kültür ve PCR sonuçları

	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	Toplam
Kültür	8 (%2)	3 (0,75)	11
PCR	24 (%6)	5 (%1,25)	29

Antibiogram Sonuçları

<u><i>Campylobacter spp.</i> için</u>	<u>S</u>	<u>R</u>
Eritromisin	10 (%100)	0
Tetrasiklin	8 (%80)	1 (%10)
Siprofloksasin	6 (%60)	4 (%40)

<u><i>Salmonella spp.</i> için</u>	<u>S</u>	<u>R</u>
Ampicillin	3 (%75)	1 (%25)
Seftriakson	3 (%75)	0
Siprofloksasin	4 (%100)	0
Trimetoprim-sülfametoksazol	4 (%100)	0

6. TARTIŞMA

Akut gastroenterit, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmakta, özellikle gelişmekte olan ülkelerde ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bazı ülkelerde ölüm nedenleri arasında kalp damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Tüm yaş gruplarında görülmekle beraber beş yaş altı çocuklar daha sık etkilenmektedir (Gürbüz ve diğ. 2010).

Birçok mikroorganizma gastroenterite neden olmaktadır. Bu nedenle etkenin belirlenmesi, gerekli tedaviye başlanması morbidite ve mortalitenin azalmasında anahtar role sahiptir. Ayrıca gastroenterit etkenleri beraberinde su ve gıda kaynaklı salgınlara neden olabildiğinden yayılımının önlenmesi için etkenin hızlıca belirlenmesi halk sağlığı açısından da önem taşımaktadır. Bakteriyel etkenlerde kültürle beraber antibiyogram testi çalışılması doğru antibiyotiğin seçilmesine de katkı sağlamaktadır. *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Campylobacter* spp. bakteriyel akut gastroenteritlerin önemli etkenleri arasındadır (Demirtürk N. 2004).

Campylobacter türleri tüm dünyada yaygın olarak görülen, gastroenterit etkeni olan bir bakteri grubudur. Genellikle kendini sınırlayan bir gastroenterit tablosuna neden olmakla beraber Guillain Barre sendromu, hepatit, nefrit, peritonit ve bakteriyemi gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Yapılan çeşitli çalışmalarda aksonal tip GBS'lu olguların yaklaşık %30 ile %40'ında 2-3 hafta önce geçirilmiş *C. jejuni* enfeksiyonunun tespit edildiği bildirilmektedir. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu, selektif besiyeri gerektirmesi ve üremesi için mikroaerofilik ortama ihtiyaç duyması nedeniyle hem zahmetli, hem pahalı hem de zaman alıcıdır. Bu nedenle birçok mikrobiyoloji laboratuvarında rutin kültür protokolünde bulunmamaktadır. Dünyada *Campylobacter* gastroenteritinin insidansı %1–35 olarak bildirilmekte, *Salmonella* ve *Shigella* gastroenteritlerine kıyasla 2-7 kat fazla görüldüğü belirtilmektedir. Türkiye'de ise *Campylobacter* türlerinin izolasyon oranı %1,4-13 arasında bildirilmektedir (Kocazeybek 2011) (Güney ve diğ. 2010).

Salmonella türleri hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde sık karşılaşılan bakteriyel gastroenterit etkenlerindedir. Genellikle kendi kendini sınırlayan hastalık tablosu oluşturan *Salmonella* spp. enterik ateş, gastroenterit, bakteriyemi ve asemptomatik taşıyıcılık gibi farklı birçok klinik tabloya neden

olabilir. Gelişmekte olan ülkelerde *S. typhi* infeksiyonları önemli iken gelişmiş ülkelerde ise nontifoidal *Salmonella* enfeksiyonları giderek önem kazanmaktadır. Gerek ABD’de gerekse ülkemizde en sık bildirilen serovaryalar *S. typhimurium* ve *S. enteritidis*’dir. Ülkemizde *Salmonella* spp. insidansı %3,3-8,4 arasında bildirilmektedir (Oflaz M. 2005) (Zarakolu ve diğ. 1999).

Shigella türleri bir diğer sık karşılaşılan bakteriyel gastroenterit etkenidir. Bulantı, kusma, sulu ishal, kanlı ishal gibi klinik tablolara neden olabilir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde klinik ve epidemiyolojik sorunlar oluşturması önemini arttırmaktadır. ABD’ de en sık *S. sonnei*, ikinci sırada *S. flexneri* etken olarak bildirilirken ülkemizde 1990’lı yıllarda en sık izole edilen tür *S. flexneri* iken son yıllarda *S. sonnei* diğer türlere göre daha yüksek oranda raporlanmaktadır. Ülkemizde *Shigella* spp. insidansı %3,2-15,6 arasında bildirilmektedir (Zarakolu ve diğ. 1999).

Yaptığımız çalışmada *Campylobacter* spp. izolasyonu için Chrom agar kullanılmış ve örneklerin %2,5’inde izole edilmiştir. PCR testi ile değerlendirildiğinde ise bu oran %8,25’e yükselmiştir. Literatüre bakıldığında *Campylobacter* türlerinin kültürde tespit edilebilmesi için CCDA (kömürlü sefoperazon deoksikolat agar) ve CSM (kömür bazlı selektif besiyeri) besiyerleri gibi kan içermeyen seçici besiyerleri ya da Campy-CVA (sefoperazon, vankomisin, amfoterisin), Skirrow ve Butzler besiyerleri gibi kan içeren seçici besiyerleri kullanmak gerektiği bildirilmektedir. Hatta yapılan çalışmalar bu besiyerlerinden yalnızca birinin izolasyonda yeterli olmayabileceğini; bir kan içeren besiyerinin (Campy-CVA) yanında bir kömür içeren besiyerinin de kullanılmasının izolasyon şansını %15 kadar artırabileceğini göstermektedir. Bu nedenle laboratuvarların böyle bir kombinasyonu kullanması önerilmektedir (Fitzgerald ve diğ. 2011). Bizim çalışmamızda tek başına Chrom agar kullanılmasına bağlı olarak kültürdeki izolasyon oranımızın PCR’a göre düşük olduğunu düşünmekteyiz. Bununla beraber gerek kültür gerekse PCR testi ile izolasyon sıklığımız literatürde belirtilen aralıkla uyumludur. Çalışmamızda *Salmonella* spp. sıklığı sadece kültür ile değerlendirildiğinde %1, PCR ile değerlendirildiğinde ise %1,25 olarak bulunmuştur. Ayrıca her iki yöntemle de hiçbir numunede *Shigella* izole edilmemiştir. Gerek *Salmonella* gerekse *Shigella* türlerinde saptadığımız oranlar literatüre göre biraz

düşüktür. Bunun nedenini, çalıştığımız hasta popülasyonunun sadece çocuklardan oluşmayıp karma bir grubu içermesine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Güney ve diğ. ayakta ve yatan hastalara ait toplam 379 dışkı numunesini değerlendirdikleri çalışmada *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için CPDA agar, *Salmonella* ve *Shigella* izolasyonu içinse SS agar kullanmışlardır. Kültürde etken olarak %3,7 *Campylobacter* ve %2,9 *Salmonella* türü izole etmişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde *Shigella* türü izole edememişlerdir. *Campylobacter* olarak izole edilen 14 suşun 13'ünü *C. jejuni* ve birini *C. coli* olarak tanımlamışlardır. *Salmonella* izolatlarının dördünü *S. enteridis*, dördünü *S. paratifo B* ve geri kalan üçünü de *S. Typhimurium* olarak tanımlamışlardır (Güney ve diğ. 2010). Bizim çalışmamızda ise *Campylobacter* spp. üreyen 10 kültür örneğinin 4'ünde *C. jejuni*, diğer 3'ünde ise *C. coli* olarak tespit edilmiştir. 3 örnekte ise tür ismi belirlenememiştir. *Salmonella* spp. üreyen 4 kültür örneğinin 2'si *S. Enteritidis*, 2'si ise *S. Typhimurium* olarak tespit edilmiştir. İki çalışmanın da tür dağılımları benzerdir.

Ağralı'nın ishal yakınması olan 487 çocuk hastaya ait dışkı örneğinde yaptığı çalışmada *Salmonella* ve *Shigella* için çalışmamıza benzer şekilde Selenit F besiyeri ile zenginleştirme yapılmış, *Campylobacter* için selektif besiyeri kullanılmıştır. 32 örnekte ishal nedeni olabilecek bakteriyel patojen üremesi saptanmıştır. Bunlar arasında en sık *Salmonella* spp. (19 örnek), ikinci sırada *Campylobacter* spp. (7 örnek) izole etmişlerdir. *Shigella* spp. izole etmemişlerdir (Ağralı M. 2019).

Yazıcı ve diğ. gastroenterit ön tanılı 80 olguya ait dışkı örneklerinin kültüründe % 4,5 oranında *Campylobacter jejuni*, %2,5 oranında *Salmonella* spp. saptamışlar, *Shigella* spp. üretememişlerdir. Bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında ilk sırada *C. jejuni*'yi saptamışlardır (Yazıcı ve diğ. 2009).

Köse ve diğ. gastroenterit tanısıyla yatarak tedavi edilen 137 hastaya ait dışkı numunesinden yaptıkları çalışmada %2,2'sinde (3 numune) kültürde *Salmonella* spp. üremesi tespit etmişler, *Shigella* spp. ise izole etmemişlerdir (Köse ve diğ. 2015).

Dışkının mikroskopik incelenmesi lökosit varlığının gösterilmesi açısından ishallerde hastalarda önemli bir yöntemdir. Fakat her zaman kültür pozitifliği ve dışkıda lökosit varlığı birbirine eşlik etmemektedir. Bazı çalışmalarda dışkıda lökosit varlığı

ile *Campylobacter* enteritleri arasında yakın bir ilişki saptanmadığı, kültür pozitifliği ile doğrulanan *Campylobacter* olgularının %25 ile %80'inde dışkıda lökosit bulunduğu bildirilmektedir. Güney ve diğ.'nin yaptığı çalışmada izole edilen 14 *Campylobacter* türünün 10'unda (%71,4) dışkının mikroskopik incelemesinde lökosit tespit etmişlerdir (Güney ve diğ. 2010). Yaptığımız çalışmada tüm numunelerin direkt mikroskopik incelemesi yapılmamış, kültür ve/veya PCR testi pozitif saptanan numunelerde lökosit varlığı araştırılmıştır. Kültür ve/veya PCR testinde pozitif sonuç görülen 38 numunenin %76,3'ünde dışkının mikroskopik incelemesinde lökosit saptanmazken sadece %23,7'sinde lökosit görülmüştür. Saptadığımız bu sonuca dayanarak dışkıda lökosit olmamasının tanıyı ekarte ettirmediği, mutlaka kültür ya da moleküler yöntemlerle doğrulanması gerektiği ortadadır.

Kara ve diğ. akut gastroenterit nedeniyle başvuran çocuklarda *Salmonella* ve *Shigella* sıklığını değerlendirdikleri çalışmada toplam 2425 hastaya ait dışkı numunesi incelemiştir. Etken olarak 77 hastada *Shigella spp.* (%3,2) ve 36 hastada *Salmonella spp.* (%1,5) saptamışlardır. 29 hastada *S. enteritidis*, 3 hastada *S. Typhimurium*; 63 hastada *S. sonnei*, 8 hastada *S. flexneri* tespit etmişlerdir. *Salmonella* suşlarında seftriakson direnci bulunmamışken *Shigella* suşlarında %9,1 seftriakson direnci bulmuşlardır. Siprofloksasin direncini *Salmonella* ve *Shigella* suşlarında sırasıyla %5,6 ve %1,3 olarak saptamışlardır. Ampisilin direncini *Salmonella* suşlarında %19,4 ve *Shigella* suşlarında %16,7 olarak bulmuşlardır. Ayrıca *Shigella* suşlarında %89,6 oranında TMP-SXT direnci saptamışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda *Salmonella* ve *Shigella*'ya bağlı gastroenteritlerin ampirik tedavisinde seftriakson ve siprofloksasinin en iyi seçenekler olduğunu tespit etmişlerdir (Kara ve diğ. 2015).

İnal ve diğ. akut gastroenterit nedeniyle başvuran 110 erişkin hastanın dışkı örneklerinde etiyolojik etkenlerin belirlenmesini amaçladıkları çalışmada *Shigella* türlerini %10,9 , *Salmonella* türlerini %2,7 oranında saptamışlardır. *Campylobacter* türlerine yönelik değerlendirme yapmamışlardır. *Shigella* türlerinin bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında ilk sırada bulmuşlardır. *Shigella* türleri (12 örnek) arasında *S. sonnei* (6 örnek), *S. flexneri* (4 örnek) ve *S. boydii* (2 örnek); *Salmonella*

türleri arasında *S. enteritidis* (2 örnek) ve *S. arizonae* (1 örnek) olarak dağılım göstermektedir. Antibiyotik duyarlılık testleri *Shigella* ve *Salmonella* kökenleri için yapılmış ve çalışılan antibiyotiklere karşı *Salmonella* kökenlerinde direnç saptamamışlardır. *Shigella* kökenlerinde ampisiline %41,6, seftriaksona %8,3, siprofloksasine %8,3 ve trimetoprim-sülfametoksazole %83,3 oranında direnç tespit etmişlerdir (İnal ve diğ. 2021).

Yaptığımız çalışmada *Shigella* spp. izole edilemediğinden *Campylobacter* ve *Salmonella* türlerinde antibiyotik duyarlılık profili değerlendirilmiştir. *Campylobacter* türlerinde eritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin; *Salmonella* türlerinde ampisilin, seftriakson, siprofloksasin ve TMP-SXT değerlendirilmiştir. *Campylobacter* türlerinde duyarlılık oranları eritromisine %100, tetrasikline %80 ve siprofloksasine %60; *Salmonella* türlerinde ise ampisiline ve seftriaksona %75, siprofloksasin ve TMP-SXT'ye %100 olarak tespit edilmiştir ve bu oranlar çalışmalar ile benzerdir.

Göktaş ve diğ. 471 hastaya ait dışkı örnekleri ile yaptıkları çalışmada multiplex PCR metoduyla bakteriyel gastroenterit etkenlerini değerlendirmişlerdir. 149 örnekte (%31,6) bakteriyel etken pozitif saptanmış, bunların da 108'i (%23) *Salmonella* spp., 8'i (%3,5) *Campylobacter* spp., 33'ü diğer bakteriyel etkenler olarak tespit etmişler, *Shigella* spp. hiç izole etmemişlerdir. Bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında *Salmonella* spp. ilk sırada bulunurken *Campylobacter* spp.'yi üçüncü sırada saptamışlardır. Çalışmalarının sonucunda gastroenterit olgularında özellikle sanitasyonun düşük olduğu, düşük sosyoekonomik düzeyli bölgelerde hızlı tanı için multiplex PCR testleri rutin tanıda faydalı olduğu kanısına varmışlardır (Göktaş ve diğ. 2018). Bizim çalışmamızda real time PCR metodu kullanılmış ve sadece bakteriyel üç etken açısından değerlendirme yapılmıştır. Aynı zamanda tüm dışkılar kültür vasatlarına ekildiğinden moleküler yöntemlerin kültüre avantajı olup olmadığı da değerlendirilmiştir. Özellikle *Campylobacter* spp. türlerinde PCR metodunun kültüre göre saptama oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle rutin tanıda kullanılmasının daha faydalı olacağı, maliyet etkinlik açısından düşünüldüğünde ise en azından belirli bölgelerde ve 3. basamak hastanelerde çalışılmasının hasta yararına olacağı kanaatindeyiz.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, dünyada ve ülkemizde yapılan birçok çalışmada *Campylobacter* spp.'ye bağlı enteritin bakteriyel gastroenteritler arasında ilk sırada görüldüğü bildirilmesine rağmen mikrobiyoloji laboratuvarlarının birçoğunda sadece *Salmonella*, *Shigella* için kültür çalışmaları yapılmaktadır. Laboratuvarların *Campylobacter* spp.'yi de rutin kültür çalışmalarına ekleyerek gerekli alt yapıyı hazırlamalarının *Campylobacter* türlerinin tanı ve tedavi sürecine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Her üç patojenin de laboratuvarında tespit oranını arttırabilmek için örnek alınmadan önce hastalar bilgilendirilerek varsa dışkının kanlı ve/veya mukuslu bölgelerinden dışkı alınması sağlanmalı ve transport kaplarına alınan örneklerin buz kalıpları arasında en geç 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılması sağlanmalıdır. Dışkının mikroskopik incelenmesinde lökosit varlığına bağlı kalmadan mutlaka ek yöntemlerle patojen araştırması yapılmasının gerekli olduğu da görülmüştür. Ayrıca araştırmamız sonucunda seçici kültür yöntemi ile realtime-PCR yönteminin tanı değerinin karşılaştırıldığında PCR ile dışkı örneklerinin %9,5'inin, selektif kültür yöntemi ile de %3,5'inin pozitif tespit edildiği saptanmıştır. Bu sonuca dayanarak, dışkıda bakteri türü tanısında PCR bazlı tekniklerin, seçici besiyerlerinin kullanıldığı kültür yöntemlerine göre daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu görülmüştür. Dışkıdan direkt PCR yöntemleri, kültürde üretilmeyen veya çoğalamayan bakteri türlerinin bulunmasını sağlamaları nedeni ile seçici kültür yöntemlerine göre tanıya daha yardımcıdır. Ayrıca aynı gün içerisinde sonuç verilebilmeleri de önemli bir avantajdır.

8. KAYNAKLAR

- AĞRALI MŞ. İshal Yakınmasıyla Çocuk Kliniğine Başvuran Hastalarda Bakteriyel Gastroenterit Etkenlerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Konya 2019
- Ahmet Celal BAŞUSTAOĞLU1 Abdullah KILIÇ1 Mustafa ÖZYURT1 Vedat TURHAN2 Gülşen HASÇELİK3 CAMPYLOBACTER JEJUNI SPP. JEJUNI'YE BAĞLI BİR BAKTERİYEMİ OLGUSU* Cilt 58, No 2, S : 67 - 70 Türk Hij Den Biyol Derg 2001.
- AKBARUT M. Bursa bölgesindeki sığırlarda izole edilen Salmonella türleri üzerine bakteriyolojik ve serolojik çalışmalar (Doktora tezi). Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Bursa. 1997.
- AKIN L, TÜLEK N, AKBAŞ E, BUYURGAN V, BAYAZIT Y. Bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildirim sistemi standart tanı, sürveyans ve laboratuvar rehberi Ankara, 2004.
- ALFREDSON DAVID, A., 2007. Korolik Victoria Identification of Putative Zinc Hydrolase Genes of the Metallo-b-Lactamase Superfamily from Campylobacter jejuni, FEMS Immunol Med Microbiol 49, 159–164.
- ALLOS, B. M., GORBACH, S. L., BARTLETT, J. G., BLACKLOW, N. R., 2004. Campylobacter, Infectious Diseases, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 3rd Edition, p: 1686-1691.
- ASHURST JV, TRUONG J, WOODBURY B. SalmonellaTyphi. StatPearls Publishing, 2020.
- ASLAN G, CEBECİ B, NAZLIGÜL Y, SETREK A. Gıda üreticileri ve çalışanlarında Salmonella taşıyıcılığı. İnfeksiyon Dergisi. 2001.15(2).s:133-136
- ATEŞ YILMAZ, A., TUĞRUL, H. M., 2005. Edirne'de İshal Etkenleri Arasında Campylobacter Türlerinin Yerinin ve Antimikrobiklere Duyarlılıklarının Araştırılması., İnfeksiyon Dergisi;19(1): 53-59.

- BARNETT R. Typhoid fever. *Lancet*. London, England, 388(10059):2467, 2016.
([http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32178-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32178-X))
- BİLGEHAN H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri infeksiyonları. İzmir. Barış Yayınları. 2000.s:29-57.
- BLASER, M. J., ALLOS, B. M., 2005. *Campylobacter jejuni* and related species, p. 2548- 2557. In G. L. MANDELL, J. E. BENNET and R. DOLIN (ed.), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa.
- BUTZLER JP, DEKEYSER P, DETRAIN M, DEHAEN F. Related vibrio in stools. *J Pediatr*. 1973; 82:493–495.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *An atlas of Salmonella in the United States, 1968-2011: Laboratory-based Enteric Disease Surveillance*. Atlanta, Georgia: U.S Department of Health and Human Services, CDC, 2013.
- COOLS, I., UYTENDAELE, M., CARO, C., D'HAESE, E., NELIS, H. J., DEBEVERE, J., 2003. Survival of *Campylobacter jejuni* Strains of Different Origin in Drinking Water. *Journal of Applied Microbiology*, 94, p:886-892.
- CRUSHELL, E., HARTY, S., SHARIF, F., BOURKE, B., 2004. Enteric *Campylobacter*: purging its secret?, *Pediatr Res*;55(1):3-12.
- DEMİRTÜRK N. Akut İshalli Olguların Değerlendirilmesi. *ANKEM Dergisi*. 2004.18(1).s:24-27.
- DOYLE LP. A vibrio associated with swine dysentery. *AmJ.VetRes* 1944;5:3-5.
- ENDTZ HUBERT, P., RUIJS GIJS, J. H. M., ZWINDERMAN AEILKO, H., REIJDEN TANNY, V. D., BIEVER, M., MOUTON, R. P., 1991. Comparison of Six Media, Including a Semisolid Agar, for the Isolation of Various *Campylobacter* Species from Stool Specimens. *Journal Of Clinical Microbiology*, Vol. 29, No. 5, p. 1007-1010, May.

ENGBERG, J., NEİMANN, J., NIELSEN, E. M., AERESTRUP, F. M., FUSSİNG, V., 2004. Quinolone-resistant *Campylobacter* infections: risk factors and clinical consequences, *Emerg Infect Dis*;10(6):1056-63.

Enterobacteriaceae: *Salmonella* and *Shigella*, Intestinal Pathogens. In: JOKLIK KW, WILLET HP, AMOS DB, WILFRET CM eds. *Zinsser Microbiology* 20th ed. Prentice-Hall, 1992:556-559.

ERDEM, B., USTAÇELEBİ, Ş. ve ark., 1999. *Campylobacter* ve *Helicobacter*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitapevi, Ankara, s:531-540.

EUCAST

Facultatively anaerobic gram-negative rods In: HOLT JG, KRIEG NR, SNEATH PH et al eds. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed, WilliamsWilkins, Maryland. 1994;175-190.

FITZGERALD, C., NACHAMKIN, I., 2011. *Campylobacter* and *Arcobacter* In: VERSALOVIC J, CARROLL KC, FUNKE G, JORGENSEN JH, LANDRY ML, WARNOCK DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C, p. 885-899

FITZGERALD, C., NACHAMKIN, I., MURRAY, P. et al., 2007. *Campylobacter* and *Arcobacter*, *Manual of Clinical Microbiology* ASM Press, 9th Edition, p: 933-946

GEDİKOĞLU S. *Salmonella* Türlerinin Mikrobiyolojisi. *Türkiye Klin.*, 6(2):1-6, 2013

GÖKTAŞ Ş, GÖKMEN AA, ŞAMLIOĞLU P. Akut Gastroenterit Etkenlerinin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. *Journal Of Clinical And Experimental Investigations*. Volume 9 • Number 1 • March 2018.

GRIMONT PP, WEILL FF-X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, 2007. 26.

- GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, FIELDS PI, BOCKEMÜHL J, Grimont PAD et al. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minorscheme. *ResMicrobiol.*, 161(1):26–9, 2010.
- GÜLMEZ D, GÜR D, HASÇELİK G, GÜLEŞEN R, LEVENT B. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (UEPLA) Dâhil Olan Bir Üniversite Hastanesinin Deneyimleri: dört yıllık Salmonella, Shigella Ve Campylobacter verileri. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg.*, 42(3):85–92, 2012.
- GÜLMEZ D. Salmonella, Bölüm: 4 Morfoloji, Kültür ve Biyokimyasal Özellikler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti; Ankara*, 52–64, 282 s. 2013.
- GÜNEY M., BAŞUSTAOĞLU 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) 40 (3): 183 – 192.
- GÜRBÜZ F, TEZER H , ŞAYLI TR. Akut Gastroenterit Nedeniyle Hastaneye Yatan Hastalarda Etkenler ve Klinik Bulgular: Epidemiyolojik Çalışma. *Türkiye Çocuk Hast. Derg. / Turkish J. Pediatr. Dis.* 2010; 4(4): 211-218.
- HARVEY R.A., CORNELİSSEN C.N., FİŞHER B.D. Lippincott'un Şekillerle Açıklamalı Derleme Ders Kitapları Mikrobiyoloji Nobel Tıp Kitabevi 2017.
- HINDIYEH, M., JENSE, S., 2000. Rapid Detection of Campylobacter jejuni in Stool Specimens by an Enzyme Immunoassay and Surveillance for Campylobacter upsaliensis in the Greater Salt Lake City Area. *J. Clin. Microbol*; 8:3076–3079.
- HODGE DONNA, S., PRESCOTT JOHN, F., SHEWEN PATRICIA, E., 1986. Direct Immunofluorescence Microscopy for Rapid Screening of Campylobacter Enteritis. *Journal of Clin. Microbiol.*, p. 863-865 Vol. 24, No. 5, Nov.

- HU L, KOPECKO D. Typhoid salmonella. Milotis M & Beir J, editör. Gıda kaynaklı patojenlerin uluslararası el kitabı. 2003; New York: Marcel Dekker, Inc.; s. 151–165.
- İNAL AS, KİBAR F, YAMAN A, TAŞOVA Y. Erişkin akut gastroenterit olgularında etiyolojik ajanlar. Cukurova Med J 2021;46(2):654-662.
- JAJERE SM. A Review of Salmonella Enterica with Particular Focus on The Pathogenicity and Virulence Factors, Host Specificity and Adaptation and Antimicrobial Resistance Including Multidrug Resistance. Vet World. 12(4):504–21, 2019.
- JERRIS, R. C., FIELDS, P. I., ISENBERG, H. D., 2004. Fecal Culture for Campylobacter and Related Organisms, Clinical Microbiology Procedures Handbook 2nd ed. ASM Press, Washington, 3.8.2.1-3.8.2.19.
- JONES FS, ORCUTT M, LITTLE RB. Vibrios (*Vibrio* sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. J Exp Med 1931; 53:853–864.
- KARA TT, ÖZDEMİR H, KURT F, GÜRİZ H, ÇİFTÇİ E, AYSEV AD, SUSKAN EZ, İNCE E. Prevalence of Salmonella and Shigella spp. and Antibiotic Resistance Status in Acute Childhood Gastroenteritis. J Pediatr Inf 2015; 9: 102-7.
- KÄRENLAMPI, R. I., TOLVANEN, T. P., H ÄNNINEN, M. L., 2004. Phylogenetic Analysis and PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism Identification of Campylobacter Species Based on Partial GroEL Gene Sequences, J Clin Microbiol; 42:5731-5738.
- KAYGUSUZ A, TÖRECİ K. “Enterik Gram Negatif Çomaklar “*Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı*” Nuri KİRAZ Cilt 2 899-941 İstanbul Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları 2011.
- KAYGUSUZ A. ve TÖRECİ K. Enterik Gram Negatif Çomaklar (*Enterobacteriaceae*) Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı Cilt II 2011.

- KEUSCH GT. The discovery of Shiga toxin and its role in clinical disease. Jpn. J. Med. Sci. Biol. 1998;51:S5-S22.
- KILIÇTURGAY K (Edt). Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi. Ankara 1994.s:93-97.
- KOCAZEYBEK, B. “Sporsuz Dallanmayan Gram pozitif Çomaklar” *Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı* Nuri KİRAZ Cilt 2 945-948 İstanbul Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları 2011.
- KONEMAN, E. W., WINN, W. C., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., PROCOP, G. W., 2006. SCHRCKENBERGER P. C. ve WOODS G. L. *Campylobacter*. Koneman’s Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology, Lippincott Williams & Wilkins, Sixth Edition, p: 393-403.
- KÖSE Ş, TÜRKEN M, ULU Y, ADAR P, ÖDEMİŞ İ. Gastroenterit tanısıyla izlenen olguların değerlendirilmesi. Tepecik Eđit. ve Arařt. Hast. Dergisi 2015; 25(2):85-88.
- KUSCHNER, R. A., TROFA, A. F., THOMAS, R. J., 1995. Use of Azithromycin for the Treatment of *Campylobacter* Enteritis in Travelers to Thailand, an Area Where Ciprofloxacin Resistance is Prevalent. Clin.Infect. Dis.; 21: 536-541.
- LEBER AL. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Chapter: Aerobic Bacteriology, Fourth ed., ASM Press Washington DC, 2016.
- LEVENT B, SEZEN F, GÜLEŞEN R, GÖZALAN A, UEPLA Çalışma Grubu. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA) Salmonella ve Shigellasuşları ve antimikrobiyal direnç durumları, 2007-2009. In: XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya.
- LEVENT B, Uepla Örneğinde Laboratuvar Ağı İşleyişi.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 7-11 Kasım 2010, Girne, KKTC. (ueplabnetwork@rsh.gov.tr, www.uepla.rsh.gov.tr)

- LEVENT B. Klinik Bakteriyoloji Tanı Standartları Çalışma Grubu. Salmonella Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS), 1–12, 2015.
- LIN, SHIYONG., WANG, XINYING., ZHENG, HAOXUAN., MAO, ZHENGGUO., SUN, YONG., JIANG, BO., 2008. Direct Detection of *Campylobacter jejuni* in Human Stool Samples by Real-time PCR, *Can. J. Microbiol.* 54: 742–747.
- LINDBERG AA, KAERNELL A, WEINTRAUB A. The lipopolysaccharide of *Shigella* bacteria as a virulence factor. *Rev. Infect. Dis.* 1991;13:279-284.
- LINDMARK, H., HARBOM, B., THEBO, L., ANDERSSON, L., HEDIN, G., OSTERMAN, B., LINDBERG, T., ANDERSSON, Y., WESTOO, A., ENGVALL, E. O., 2004. Genetic Characterization and Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni* Isolated from Meats, Water, and Humans in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 42, No. 2, p. 700–706, Feb.
- MAHON CR, MANUSELIS G. Enterobacteriaceae. In: MAHON CR, MANUSELIS G(eds). *Textbook of diagnostic microbiology*, 2nd ed. W.B. Saunders Company, 2000;484-486.
- MCFADYEAN J, STOCKMAN S. Report of the Departmental Committee Appointed By The Board Of Agriculture And Fisheries To Inquire Into Epizootic Abortion. III. Abortion in Sheep London: HMSO, 1913.
- MILLER S, PEGUES D. *Salmonella typhi* dahil *Salmonella* türleri. *Prensip ve Bulaşıcı Hastalık Uygulaması*. Mandel G, Bennet J ve Dolin R. 5. Baskı, Cilt 2. Churchill Livingstone 2000; s.2344.
- MURPHY, C., CARROLL, C., JORDAN, K. N., 2003. Identification of a novel stress resistance mechanism in *Campylobacter jejuni*. *Journal of Applied Microbiology*, 95, p: 704-708.
- MURRAY P, BARON E, PFALER M, TENOVER F, YOLKEN R. *Klinik mikrobiyoloji el kitabı*. 7. baskı. ASM bas. 1999; Washington DC.

- MUTLU G, İzmir T, CENGİZ A. T, USTAÇELEBİ Ş, TÜMBAY E, METE Ö(Ed).
Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. 1999.s: 489-502.
- NACHAMKIN, I., MURRAY, P. R., BARON, E. J., PFALLER, M. A., 1999.
Campylobacter and Arcobacter. Manual of Clinical Microbiology. 3.th ed:716-722.
- OFLAZ M. Çiğ ve Pişmiş Sakatatta Salmonella Görülme Sıklığı (Yüksek lisans Tezi). Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Sivas. 2005
- On, S. L. W., 1996. Identification Methods for Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms Clinical Microbiology Reviews:405–422
- ÖNGEN, B., NAZİK, H., KAYA, I., 2007. Rutin Dışkı Kültürlerinde Üretilen Campylobacter Türleri ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları: 5 yıllık Sonuçların Değerlendirilmesi. Ankem Derg;21(1):37-41.
- PAISLEY JOHN, W., MIRRETT, S., LAUER BRIAN, A., ROE, M., RELLER, L. B., 1982. Dark-Field Microscopy of Human Feces for Presumptive Diagnosis of Campylobacter fetus subsp. Jejuni Enteritis. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 15, No. 1, p. 61- 63, Jan.
- PARLAK A , BAYRAM Y, ÇIKMAN A , BERKTAŞ M. Kan ve Dışkı Örneklerinden İzole Edilen Salmonella Ve Shigella Suşları ve Antibiyotiklere Direnç Oranları. ANKEM Derg 2012;26(3):126-130
- PERSSON, S., OLSEN KATHARINA, E. P., 2005. Multiplex PCR for Identification of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni from Pure Cultures and Directly on, Journal of Medical Microbiology, 54, 1043–1047.
- POLY F, THREADGILL D, STINTZI A.J ClinMikrobiyol. 2005 Mayıs;43(5):2330-8. doi: 10.1128/JCM.43.5.2330-2338.2005.
- PROCOP GW, CHURCH DL, HALL GS, JANDA WM, KONEMAN EW, SCHRECKENBERGER PC and WOODS GL, Koneman's Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed., Chapter: Bacteriology: Taxonomy, Morphology, Physiology, and Virulence. Wolters Kluwer 2017.

- PROCOP GW, CHURCH DL, HALL GS, JANDA WM, KONEMAN EW, SCHRECKENBERGER PC and WOODS GL. Koneman's Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology, 7th ed., Chapter: Enterobacteriaceae, Wolters Kluwer 2017.
- RAUTELIN, H., JUSUFOVIC, J., HANNINEN, M. L., 1999. Identification of Hippurate Negative Thermophilic Campylobacters, *Diagn Microbiol. Infect. Dis*; 35:9-12.
- ROBINSON, D., 1981. Infectivedose of *Campylobacter jejuni* in Milk, *British Medical Journal*, Volume 282, p:1584, May.
- SCHERER C, MILLER S. Salmonella'nın moleküler patogenezi. Groisman E (Ed.). Bakteriyel patogenez ilkesi, s. 265-316. Amerika Birleşik Devletleri: Akademik Yayın, tifo hastalığı tekrarlayan vaka. *Klinik Mikrobiyoloji Dergisi* 2001; 37: 2466–2472.
- SCHMIDT, O. R., POHL, S., BURGHARD, S., WEIG, M., 2005. Identification and characterization of a major subgroup of conjugative *Campylobacter jejuni* plasmids, *Journal of Infection*, 50, 12–21.
- SCHUURMAN, T., de DOER, R. F., van ZANTEN, E., van SLOCHTEREN, K. R., SCHEPER, H. R., DIJK-ALBERTS, B. G., MOLLER, A. V. M., KOOISTRA-SMID, A. M. D., 2007 Feasibility of a Molecular Screening Method for Detection of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni* in a Routine Community-Based Clinical Microbiology Laboratory, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 45, No. 11, p. 692–3700, Nov.
- SERTER D, DERELİ D, ERTEM E. Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul. Nobel Tıp Kitapları. 1997. s:148-151.
- Shigella In: BİLGEHAN H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 10.baskı. Fakülteler Kitabevi, İzmir 2000;17-29.
- SKIRROW MB. *Campylobacter enteritis*: a 'new' disease. *BMJ* 1977; 2:9–11.

- SKIRROW, M. B., BLASER, M. J., 2000. Clinical aspects of Campylobacter infection, p. 69- 88. In I. NACHANKIN and M. J. BLASER (ed.) Campylobacter, 2nd ed. ASM Pres, Washington, D.C.
- SMIBERT, R. M., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriolog.2th Ed. USA: Springer, 145–1165.
- SMITH T. Theetiological relation of Spirilla (V. fetus) to bovine abortion. J Exp Med, 1919; 30:313–323.
- SÜMERKAN B. Salmonella, Bölüm: Epidemiyoloji. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti; Ankara, 210–5, 282 s., 2013.
- TOLCIN, R., LASALVIA, M. M., KIRKLEY, B. A., VETTER, E. A., 2000. Evaluation of the Alexon-Trend Pro SpecT Campylobacter Microplate Assay J. Clin. Microbol.; 10:3853-3855.
- TOPÇU AW, Demirtürk N. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 872–86, 2017.
- TOPÇU AW, SÖYLETİR G, DOĞANAY M. İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Nobel Tıp Kitapları. İstanbul. 2002.s:1586-1596.
- TÖRECİ K. Salmonella, Bölüm 1: Tarihçe, Sınıflandırma ve İsimlendirme. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti; 1–18 s., 2013.
- USTAÇELEBİ Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi Ltd şirketi. Ankara 1. baskı. 1999.s:485-502
- VINNI H., M., ROSENQUIST, H., BAGGESEN Dorte, L., BROWN, S., CHRISTENSEN BJARKE, B., 2007. Characterization of Campylobacter phages including analysis of host range by selected.
- WANG WEN-LAN, L., RELLER, L., BARTH, SMALLWOOD BETTY., LUECHTEFELDNANCY, W., BLASER, MSRTIN J., 1983. Evaluation of Transport Media for Campylobacter jejuni in Human Fecal Specimens. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 18, No. 4, p. 803-807, Oct.
- WANG, HUI., MURDOCH, DAVID R., 2004. Detection of Campylobacter Species in Faecal Samples by Direct Gram Stain Microscopy. The Journal of the

Royal College of Pathologists of Australasia, Volume 36, Issue 4, pages: 343 – 344, August

WINN, W., ALLEN, S., JANDA, W., KONEMAN, E., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P., WOODS, G., 2006. Curved Gram negative bacilli and oxidase positive fermenters: Campylobacteraceae and Vibrionaceae. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 321-361.

YAZICI V, GÜLTEKİN B, AYDIN N, ARAL YZ, AYDOĞDU A, KARAOĞLU AÖ. Akut Gastroenteritli Olguların Dışkı Örneklerinde Bazı Bakteri ve Virüslerin Araştırılması. ANKEM Derg 2009;23(2):59-65.

YORK, M. K., TRAYLOR, M. M., HARDY, J., HENRY, M., ISENBERG, H.D., 2004. Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria, Clinical Microbiology Procedures Handbook 2nd ed. ASM Press, Washington, p: 3.17.1.1-3.17.48.3.

ZARAKOLU P, AKBAŞ E, LEVENT B, GÖZALAN A. İshalli Çocuk Hastalardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlerin Dağılımı. Flora 1999;4(3):190-194