ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KERKÜK İLİNDE ÇOCUKLARDA İSHALE NEDEN OLAN BAKTERİ VE MAYALARIN İZOLASYONU VE TEŞHİSİ

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

CANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH tarafından hazırlanan **"Kerkük İlinde Çocuklarda İshale Neden Olan Bakteri ve Mayaların İzolasyonu ve Teşhisi"** adlı tez çalışması 01/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Okan ÜRKER

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Sanaa Hussein MOHAMMED

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr.Öğr. Üyesi Okan ÜRKER
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr.Öğr. Üyesi Bahadır AKMAN
Tarım Bilimleri Anabilim Dalı
Iğıdır Üniversitesi

Üye : Dr.Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Kerkük İlinde Çocuklarda İshale Neden Olan Bakteri ve Mayaların İzolasyonu ve Teşhisi"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim 27.06.2022.

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KERKÜK İLİNDE ÇOCUKLARDA İSHALE NEDEN OLAN BAKTERİ VE MAYALARIN İZOLASYONU VE TEŞHİSİ

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Okan ÜRKER
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sanaa Hussein MOHAMMED

Bu çalışmanın amacı düzenli kültür teknikleri ve biyokimyasal yöntemlerle bakteriyel mikroorganizmaların izolasyonu ve analizinin yapılması ile birlikte Api 20E, RapIDTM ONE ve Vitek 2 konservatif sistem kullanılarak bakteriyel mikroorganizmalara ilişkin elde edilen sonuçların doğrulanması, sindirim sistemindeki paraziter mikroorganizmaların izolasyonu ve tayini, C AUX 20 kullanarak CHROM agar Candida üzerinde *Candida* türlerinin doğrulanması ve *Salmonella* türlerinin ayrılmalarının, ayrıca Shigella 'nın anti-mikrobiyallere karşı duyarlılığının incelenmesidir. Bu çalışmada Kerkük şehrindeki (Irak) 3 farklı hastanade her iki cinsiyetten 0-14 yaş arasında ishal tanısı konulan toplam 200 çocuk hastadan elde edilen bağırsak içeriği materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmaya ait analizler; Kerkük Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümü lisansüstü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Mevcut çalışma; 113 vakanın erkek (yüzde 56,5) ve 87 vakanın (yüzde 43,5) kız olduğunu, 11-14 yaş aralığındaki çocukların ise en fazla enfekte olan grubu teşkil ettiğini göstermiştir. Salmonella bakterisinin bu yaş grubunda daha yaygın olduğu bulunmuştur (P 0,051). Bakteri izolatlarının antibiyotiklere duyarlılığı Kerby-Bauer yaygın disk yöntemiyle doğrulanmıştır. Ayrıca, Salmonella anjiyospermlerinin litik aktivitesini öngören Salmonella Bakteriyofajının termal stabilitesine ilişkin ek bir bulgu da çalışmanın niteliğini arttırmaktadır. Bu çalışma, ayrıca Salmonella anjiospermlerinin 45°C sıcaklığa 30 dakikada maruz kaldığını göstermiştir.

2022, 58 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Bakteri, Maya, *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *E.coli*

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ISOLATION AND DIAGNOSIS OF BACTERIA AND YEAST CAUSING DIARRHEA IN CHILDREN IN KIRKUK PROVINCE

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr Okan ÜRKER
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Sanaa Hussein MOHAMMED

The aim of this study is to isolate and analyze bacterial microorganisms with regular culture techniques and biochemical measures, as well as to confirm the results obtained on bacterial microorganisms using the Api 20E, RapIDTM ONE and Vitek 2 conservative system, isolation and determination of digestive parasite microorganisms, using the C AUX 20 framework. It covers the confirmation of *Candida spp*. and the differentiation of *Salmonella spp*. on CHROM agar Candida, as well as the investigation of the susceptibility of Shigella to antimicrobials. In this study, intestinal candida obtained from a total of 200 pediatric patients of both sexes, aged 0-14 years, diagnosed with diarrhea in 3 different hospitals in the city of Kirkuk (Iraq), were used as material. Analysis of the study; It was carried out in the graduate laboratory of the Department of Biological Sciences of Kirkuk University. Current study; it showed that 113 cases were male (56.5 percent) and 87 cases (43.5 percent) were girls, while children between the ages of 11-14 were the most infected group. Salmonella bacteria were found to be more common in this age group (P 0.051). The susceptibility of bacterial isolates to antibiotics was confirmed by the Kerby-Bauer common disc method. An additional finding regarding the thermal stability of Salmonella Bacteriophage, which predicts the lytic activity of Salmonella angiosperms, increases the quality of the study. This study also showed that Salmonella angiosperms were exposed to 45°C in 30 minutes.

2022, 58 pages

Keywords: Bacteria, Yeast, *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *E.coli*

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Okan ÜRKER ve eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Sanaa Hussein MOHAMMED'e, rehberlikleri ve anlayışları için teşekkür ederim.

Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

Çankırı, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **viii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **ix**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xii**
1 GİRİŞ **1**
1.1 Amaç **1**
2 LİTERATÜR ÖZETİ **2**
2.1 İshal **2**
2.2 Farklı İshal Türleri **2**
2.2.1 Bakteriyel ishal **2**
2.2.2 Virüs kaynaklı ishal **2**
2.2.3 Parazit kaynaklı ishal **3**
2.3 Bir Bakteri Türü Olarak *Salmonella* **3**
2.3.1 Sınıflandırma ve terminoloji **3**
2.3.2 Morfolojik ve biyokimyasal özellikler **4**
2.3.3 Risk faktörleri ve epidemiyoloji **5**
2.3.4 Patojenez ve virülans faktörleri **5**
2.3.5 Salmonella aşısı **6**
2.4 Bir Bakteri Türü Olarak *Shigella* **7**
2.4.1 Antijen türleri ve sınıflandırma **7**
2.4.2 *Shigella flexneri* **8**
2.4.3 *Shigella dysenteriae* **8**
2.4.4 *Shigella boydii* **8**
2.4.5 *Shigella sonnei* **9**
2.4.6 Fizyolojik özellikler **9**
3 MATERYAL VE METOT **10**

3.1 Materyal 10
3.1.1 Laboratuvar ekipmanı 10
3.1.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler 10
3.1.3 Laboratuvar cihazları 11
3.1.4 Reaktifler 12
3.1.5 Gram boyama, çözeltiler 12
3.1.6 Laktofenol pamuk mavisi 12
3.1.7 Antibiyotik tabletler 13
3.2 Çözeltilerin ve Tamponların Hazırlanması 13
3.2.1 Fizyolojik tuzlu su çözeltisi (%0,9) - Normal tuzlu su çözeltisi 13
3.2.2 Macfarland standart çözeltisi 14
3.2.3 Magnezyum tuzu düzenleyici çözelti 14
3.2.4 NaOH çözeltisi 15
3.2.5 HCl çözeltisi 15
3.3 Reaktiflerin Hazırlanması 15
3.3.1 Kovacs reaktifi 15
3.3.2 Metil kırmızısı reaktifi 15
3.3.3 Voges-Proskauer reaktifi 15
3.4 Kültür Ortamının Hazırlanması 16
3.4.1 Besin agarı 16
3.4.2 Ortam MacConkey agarı 16
3.4.3 Ksiloz lizin desoksikolat (XLD) 16
3.4.4 Ortam agar salmonella shigella agarı 17
3.4.5 Eozin metilen mavisi agarı (EMB) 17
3.4.6 Triptikaz soya agarı 17
3.4.7 Triptikaz soya besiyeri 18
3.4.8 Middle agar Mueller Hinton agarı 18
3.4.9 Beyin kalp infüzyonu besiyeri 18
3.4.10 Beyin kalp infüzyonu agarı 19
3.4.11 Sabouraud dekstroz agarı 19
3.4.12 CHROM candida agarı 19
3.4.13 Tetra tiyonat besiyeri 20

3.5 Hasta Yapısı ve Numune Toplama 20
3.6 Bakteri Örneklerinin Kültürü 21
3.7 Mikroskopi Yöntemi 21
3.8 Biyokimyasal Testlerle Tanı 21
3.8.1 İndol üretim testi 21
3.8.2 Voges proskauer testi-metil kırmızısı 22
3.8.3 Sitrat kullanım testi 23
3.9 API 20E Kullanarak Bakteri Tanısı 23
3.10 RapID TM ONE Kullanarak Bakteri Tanısı Şeridi Oluşturulması 25
3.11 Vıtek 2 Compact Yoluyla Tanı 26
3.11.1 API 20C AUX yoluyla candida türleri tanısı 26
3.12 Salmonella ve Shigella Bakteri Duyarlılığı Testi 27
3.13 Candida Türlerinin İzolasyonu 28
3.13.1 Kültür ve numune alma 28
3.13.2 Candida izolatlarının direkt mikroskobik incelemesi 28
3.14 Candida türleri tanıması 29
3.14.1 CaC. agarının teşhis ortamı 29
3.14.2 Germ tüpü testi (GT) 29
3.14.3 API 20CAUX tarafından candida tanısı 29
3.15 Bakteri İzolatlarının ve Candida'nın Korunması ve Bakımı 29
3.15.1 Kısa süreli koruma 29
3.15.2 Uzun süreli koruma 30
4 BULGULAR VE TARTIŞMA 31
4.1 Çalışma Sırasında İzole Edilen Örnekler 31
4.2 İzole Numunelerin Doğrudan Mikroskobik Teşhisi 34
4.2.1 Salmonella kolonileri 35
4.2.2 Shigella kolonileri 36
4.2.3 *E.coli* kolonileri 36
4.2.4 İntestinal candida türleri izolatları izolatlar 37
4.3 Biyokimyasal Testler 38
4.3.1 Metil kırmızısı ve voges proskauer 39
4.3.2 Sitrat kullanım testi 39

4.3.3 RapID ON ile tanı 40
4.4 Enfeksiyonun Dağılımı 41
4.4.1 İshal ile ilişkili patolojik faktörlerin prevalansı ile cinsiyet arasındaki ilişki 41
4.4.2 İshal ile ilişkili patolojik faktörlerin prevalansı ile yaş grupları arasındaki ilişki 42
4.4.3 İshal ile ilişkili patojenlerin prevalansı ile beslenme şekli arasındaki ilişki ... 43
4.4.4 İshal ile ilişkili patojenik mikropların prevalansı ile yılın mevsimleri arasındaki ilişki 44
4.4.5 İshale neden olan patojenlerin prevalansının annenin eğitim düzeyi ile ilişkisi 45
4.4.6 İshal ile ilişkili patojenlerin yaygınlığı ile ikamet edilen yer arasındaki ilişki... 45
4.4.7 İshal ile ilişkili patojenlerin yaygınlığı ile su kaynaklarının kalitesi arasındaki ilişki 46
4.5 Salmonella ve *Shigella* Bakteri Duyarlılığı Testi 47
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 50
5.1 Sonuçlar 50
5.2 Öneriler 50
KAYNAKLAR 51
ÖZGEÇMİŞ 58

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
±	Artı eksi
°C	Santigrat derece
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
Mg	Miligram
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

ADH	Argin dihidrotaz
AÜGDK	Aşılar için ürün geliştirme danışma kurulu
CaC	Candida kromojenik agar
EBYS	Edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu
EIAPI	Enterobacteriaceae için analitik profil indeksi
HÜS	Hemolitik üremik sendrom
IM	İnsan malignitesi
İMVPS	İndol, metil, voges proskauer, sitrat
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
MHA	Mueller hinton agar
RPAE	Rekombinant pseudomonas aeruginosa exoprotein
SDA	Sabouraud dekstroz agar
SLT	Şiga toksini

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Sağda *morganella morganii* ve solda *enterobacter aerogenes* ile aşılanmış besiyeri indol test sonuçları (Leboffe and Pierce 2011) 22
Şekil 3.2 Metil Kırmızısı testi. Solda *Escherichia coli* (MK-pozitif) ve sağda aerobik enterokok (MR-negatif) (Leboffe and Pierce 2011) 23
Şekil 3.3 API 20 şeridi. üst şerit aşılanmamıştır ve alt şerit, jelatin tüp dışındaki tüm sonuçlar için pozitiftir 24
Şekil 3.4 Rapid TM one bandı 25
Şekil 3.5 API 20C AUX test şeridi 27
Şekil 4.1 İshali olan çocukların dışkılarındaki bakteri izolatlarının yüzdesine göre patojenlerin dağılımı 32
Şekil 4.2 Çocuklarda ishal vakalarında kandida türlerini ve yüzdelerini gösteren diyagram 33
Şekil 4.3 Salmonella, Shigella ve Candida'nın (A) Salmonella (B) Shigella (C) *E.coli* (D) Candida türleri (H) Fotomikroskopu altında gram boyalı izolatları laktofenol mavisi pamuk boya ile boyanmıştır 35
Şekil 4.4 (A) (2-3) mm çapında renksiz yarı dışbükey, MacConkey besiyerinde düşük viskoziteli, düzenli kenarlı şeffaf Salmonella kolonileri (B) XLD üzerindeki Salmonella kolonileri (C) Merkezi olan veya olmayan ve Siyah ve XLD besiyeri ve SS agar üzerinde Salmone beyazı şeffaf koloniler. (D) EMB ortamında, soluk ila pembemsi koloniler ortaya çıkmıştır. (H) Hematopoietik besiyerinde liziz oluşturmayan (Gama tipi) Salmonella kolonileri belirmiştir 35
Şekil 4.5 (A) XLD ortamında hidrojen sülfit üretimi olmayan Shigella pembesi koloniler, (B,1) Shigella kolonileri laktoz için fermente edilmemiş ve MaC ortamında sarımsı beyazdır. (B, 2) MaC ortamında *E.coli* kolonileri (C) Shigella kolonileri EMB ortamında beyaz ila pembe-mor koloniler üredi (D) SSA ortamında yarı saydam ila beyaz Shigella kolonileri üremiştir 36
Şekil 4.6 (A) XLD besiyerinde dışbükey beyaz sarı *E.coli* kolonileri (B) Laktozu fermente eden *E.coli* kolonileri MacConkey besiyerinde pembedir (C) Laktozla fermente edilmiş *E.coli* kolonileri SSA besiyerinde açık pembe renkte (D)) EMB ortamında metalik yeşil parlaklığa sahip E.coli kolonileri 37
Şekil 4.7 (A) 48 saat inkübasyondan sonra SDA agar besiyerinde beyaz, parlak, dışbükey zikzak kenarlı *C. albicans* kolonileri (B) *C. albicans* izolatları için belirgin parlak yeşil renkli koloniler ve *C. glabrata* için etli pembe koloniler, CaC agar besiyerinde *C. tropikalis* kolonileri mavimsi yeşil, *C. Krusei* (soluk pembe) (C) SDA besiyerinde saf *C. glabrata* yumurtalık kolonileri ve CaC agar besiyerinde pembe koloniler (D) C kolonileri. *C.tropicalis*, CaC'de mavi, SDA'da beyazdır 37

Şekil 4.8 CaC agar ortamı üzerinde 30°c inkübasyon sıcaklığında (48-72) saatte büyüyen candida türleri kolonileri.....38
Şekil 4.9 (A) Biyokimya testlerinin sonuçları: Salmonella izolatı için sırasıyla sağdan sola, sitrat, üreaz, motilite, KIA ve indol (B) Test sonuçları: Sağdan sola sitrat, KIA, indol, motilite ve üreaz, izole Shigella (C) Test sonuçları: Sitrat, KIA ve Üreaz Prote us bakterisi.....38
Şekil 4.1037°C'de 24 saat inkübasyondan sonra ishal vakalarından izole edilen patojenik bakteri izolatları için kırmızı metilasyon testinin sonuçları.....39
Şekil 4.11İshal vakalarından izole edilen bakteriler için sitrat testi sonuçları (A) Shigella. (B) Salmonella.....40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar 10
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik materyallerin tablosu 11
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan laboratuvar aletleri 11
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan reaktifler 12
Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan antibiyotikler 13
Çizelge 3.6 Api 20E'de bulunan 20 biyokimyasal test sistemi 24
Çizelge 4.1 İshali olan çocukların dışkılarından izole edilen bakteri izolatlarının yüzdesi 31
Çizelge 4.2 İzolatların besiyeri üzerindeki görünümüne göre sayıları ve pediatrik hastaların diyare örneklerinden izole edilen kandida türlerinin yüzdesi.... 33
Çizelge 4.3 Pozitif (+) ve negatif (-) ve farklı D, bazik K, asit A 40
Çizelge 4.4 Hastaların cinsiyetine göre diyare vakalarında patolojik faktörlerin yüzdesi 41
Çizelge 4.5 İshali olan hastaların yaş gruplarının dağılımı 42
Çizelge 4.6 Besin kaynağı ile diyare prevalansı arasındaki ilişki 44
Çizelge 4.7 Mevsimlere göre patojenlerin oranı 44
Çizelge 4.8 Annenin eğitim düzeyine göre enfekte hastaların dağılımı 45
Çizelge 4.9 Enfekte hastaların yerleşim yerine göre dağılımı 46
Çizelge 4.10 Enfekte hastaların su tipine göre dağılımı..... 47
Çizelge 4.11 Salmonella izolatlarının antibiyotiklere duyarlılığı 47
Çizelge 4.12 Shigellanın antibiyotiklere duyarlılığı 48
Çizelge 4.13 Bakteri izolatlarını tanımlamak için kullanılan teknikler arasındaki fark .49

1 GİRİŞ

Asya, Afrika ve Amerika'da her yıl 4.6-6 milyon genç ishalden ötürü hayatını kaybetmekte ve bu ölümlerin %80'i ise yaşamın ilk iki yılında meydana gelmektedir (Wright *et al.* 1997). Bu durumlar genelde açlıkla bağlantılıdır ve klinik değerlendirmenin maliyeti de çoğu tarım ülkesinde refah çerçevesini etkilemektedir (Ngabo *et al.* 2016). İshalin nedenleri, Simbiotik *E. coli*, Proteus türleri, Salmonella türleri, Tifo ve tifo dışı Shigella türleri, Citrobacter türleri, Yersinia, Enterocolitica ve Klebsiella gibi yaygın mikroorganizmalar ile kontaminasyonu içermektedir (Miliwebsky *et al.* 2016). Klebsiella türleri; bağırsak salmonellası, ilaçlar ve farklı şekildeki tüketimler kadar kritik açıdan finansal talihsizliklere neden olabilen şekilde insan refahı için bir tehlikedir (World Health Organization 2020). Kontaminasyon finansal unsurlara, sağlık durumuna, güvenli su kaynaklarına erişime, atık suların uzaklaştırılmasına, hijyene, güç kaynağına, gıdaların soğutulmasına, canlılarla ve olası mikroorganizmalarla yakın temasa göre farklılık göstermekte olup, ishale bağlı persistan hastalıklar da özellikle gençler ve düşük geçim kaynaklarına sahip olanlar arasında yaygındır.

1.1 Amaç

Bu çalışmanın amacı düzenli kültür teknikleri ve biyokimyasal yöntemlerle bakteriyel mikroorganizmaların izolasyonu ve analizinin yapılması ile birlikte Api 20E, RapIDTM ONE ve Vitek 2 konservatif sistem kullanılarak bakteriyel mikroorganizmalara ilişkin elde edilen sonuçların doğrulanması, ishal etkeni mikroorganizmaların izolasyonu ve tayini, C AUX 20 çerçevesini kullanarak CHROM agar Candida üzerinde Candida türlerinin doğrulanması ve Salmonella türlerinin ayrılmalarının, ayrıca Shigella türlerinin anti-mikrobiyallere karşı duyarlılığının incelenmesini konu edinmektedir.

2 LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İshal

Dünya Sağlık Örgütü, ishali tek bir günde üç veya daha fazla sıvı veya yarı sıvı halde dışkılama veya anormal derecede yumuşak dışkılama olarak tanımlar. Doğumdan önce oluşturulan doğal pasif bağışıklık nedeniyle, altı ila dokuz aylık bebeklerde dışkılama ihtiyacı olduğundan, emzirmenin neden olduğu yumuşak dışkılar ishal olarak adlandırılmaz (Ngabo *et al.* 2016).

2.2 Farklı İshal Türleri

2.2.1 Bakteriyel ishal

Çocuklarda ishal, farklı bakterilerden kaynaklanır ve buna kolon bakterileri, *Yersinia,* Shigella türleri ve *Citrobacter* türleri, *Salmonella* türleri, gıda zehirlenmesine neden olan bakteriler de dahildir. *E. coli* ve *Klebsiella* türleri de bilinen bakteri türleridir. Akut sulu ishal, kolera ile ilişkili ishalin ayırt edici özelliğidir (Jameel *et al.* 2016).

Şiddetli dehidrasyon (kolera vakalarında daha sık görülür), Shigella'nın neden olduğu kanlı ishal, hemolitik-üremik (ETEC ile ilişkili HUS Sendromu) Entero-Toksijenik *E.coli* ve Guillain Barre sendromu komplikasyonlar arasındadır. *Yersinia enterocolitica*'nın neden olduğu Compylobacter ve mezenterik adenit ile ilişkili GBS (Barre Sendromu) de önem arz etmektedir (Pardo *et al.* 2007, Thauvin-Robinet *et al.* 2014).

2.2.2 Virüs kaynaklı ishal

Rotavirüs ve Norovirüsün yanı sıra Hepatit B ve Sitomegalovirüs, 5 yaşın altındaki çocuklarda şiddetli ishalin başlıca nedenleri olup, dünya genelinde yüksek morbidite ve ölüm oranlarına neden olmaktadır. Rotavirüs enfeksiyonu tüm yıl ılıman, tropikal ve yarı tropikal iklimlerde görülür, ancak ılıman bölgelerdeki soğuk aylarda rotavirüsün prevalansı daha yüksektir (Spoleti *et al.* 2018).

2.2.3 Parazit kaynaklı ishal

Irak'ın Dhi Qar bölgesinde yapılan bir araştırmaya göre, bağırsak parazitleri altı yaşın altındaki çocuklarda %5,30 görülen ishalin önde gelen nedenlerinden biridir (bu çalışmada doku amibi, giardia, amebiyaz, *Amebiasis koli* ve primer rakamların yüzde 175 olduğu kaydedilmiştir *Entamoeba coli* (%2) *Giardia lamblia* (%7,5), *Entamoeba histolytica Hymenolepis na na* (%2,5) (Al-Mosawi 2016).

2.3 Bir Bakteri Türü Olarak *Salmonella*

1885'te Amerikalı veteriner patolog Daniel Elmer Salmon ve çalışma ortağı Theobald Smith, Salmonella cinsini keşfetmiştir. Smith, hasta olan domuzlarda daha önce Cholera-Suisse olarak bilinen yeni bir bakteri türünü de keşfetmiştir (Kass 1987, Schultz 2008).

2.3.1 Sınıflandırma ve terminoloji

Salmonella, *Enterobacteriaceae* familyasına aittir ve şu anda Kauffman White Scheme'de 2.400'ün üzerinde serotip bulunmaktadır. Başlangıçta üç ayrı tür olarak sınıflandırılmıştır; Serotipleri ile birlikte *Salmonella Typhi, Salmonella choleraesuis* ve *S. enteritidis* (Bugarel *et al.* 2018) üç antijene dayalı 2500 serovarın üzerinde serotip bulmaktadır: O, H ve Vi (Bouvet and Jeanjean 1992).

Tüm patojenik *Salmonella* türleri, yakın zamanda yapılan melezleme araştırmalarına göre yedi alt türe ayrılan *Salmonella enterica* adlı bir türe aittir (Cheesbrough 2005). Kaufmann-beyaz sistemi Salmonella bakterilerini adlandırmak için kullanılır ve somatik antijene (O Antijenleri) ve flagellalı antijene (H Antijenleri) dayanır. İkinci aşama sayılarla ölçülür (Brooks *et al.* 2007, Tindall *et al.* 2005) ve bir kapsülle çevrili *Salmonella typhi, S. paratyphi* ve *S. dublin* suşlarında kapsül (Vi Ag) olarak adlandırılır. (Le Minor 1987). Güncel bilimsel *Salmonella* sınıflandırması olan ve (Ong *et al.* 2013) tarafından yapılan sınıflandırma aşağıdaki gibidir:

- Tür: *Enterobacteriales*
- Aile: *Enterobacteriaceae*
- Familya: Salmonella
- Alan: Bakteri
- Filum: Proteobakteri
- Sınıf: Gammaproteobacteria
- Salmonella enterica, bir Salmonella türüdür
- Salmonella enterica enterica, Salmonella enterica'nın alt tipidir.
- Salmonella enterica serovar non-typhoid serovar Salmonella

2.3.2 Morfolojik ve biyokimyasal özellikler

Salmonella, *S. pullorum* ve *S. gallinarium* suşları hariç, fakültatif aerobik sporlar oluşturmadan, yaklaşık 2-5 µm uzunluğunda ve 0,8-1,5 µm genişliğinde, düz, gram negatif basiller olarak büyür ve çevresel flagella ile hareket eder. Salmonella gelişimi için ideal sıcaklık 35°C -37°C arasındadır, ancak bazı suşlar 45°C -47°C'de ortaya çıkabilir. Salmonella, standart sıcaklık olan 70°C'de ölür (Pui *et al.* 2011.). Salmonella suşları öncelikle besin ortamında (SSA, XLD, TSA) gelişir ve çoğu, sülfat fosfat ve azotun amonyum tuzu içeren ortamların yanı sıra bir enerji ve karbon kaynağı olarak glikoz gerektirir (Kadhim 2020). Salmonella'nın metabolizması hem respiratuvar hem de fermente edicidir. Tek karbon kaynağı olarak sitratı ve tek azot kaynağı olarak lizini metabolize etme kapasitesi ile tanımlanan *Enterobacteriaceae* familyasına aittir. Katalaz ve metil kırmızısı testleri pozitif, oksidaz, üreaz, indol ve Focus-Proskauer testleri negatiftir (Abulreesh 2012). Demir agarda (Kligler) (ortam, glikoz ve laktozu fermente etme kabiliyetini değerlendirmek için kullanılır; Salmonella, glikozu fermente edebilir ancak laktozu veya sukrozu edemez (O'Regan *et al.* 2009), Salmonella cinsi gaz ve hidrojen sülfür üretir (O'Regan *et al.* 2009).

2.3.3 Risk faktörleri ve epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri'nde *Salmonella typhimurium* ve *Salmonella enteritidis* serotipleri en sık görülenler türlerdir (endemik). Enterit, insanlarda ve sığır çiftlik hayvanlarında gübre ile kirlenmiş gıda ve sebzelerden kaynaklanır. Ayrıca çiğ veya kirli yiyecek veya içecek tüketerek de bulaşabilir (Adzitey *et al.* 2019, Bugarel *et al.* 2018). Bazı Salmonella suşları, "konak sınırlamalı" olarak adlandırılan tek bir konakçıyla sınırlıdır, diğerleri ise "konağa uyarlanmış" olarak adlandırılan geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir. Hayvanlar dışkıladığında dışkıları çevreye yayılabilir. Arazi serotipleri böcekler ve diğer hayvanlar yoluyla daha geniş alanlara yayılabilir ve ayrıca suyoluyla da doğal olarak yayılırlar (Andino and Hanning 2015).

Bir yaşın altındaki hem erkekler hem de kadınlar en yüksek enfeksiyon oranına sahiptir (erkekler, 110,2)/1000.000; (kadın, 94,2/ 100,000). Kadınlarda (13,92), 2014 yılında erkeklerden (86,12) daha yüksek bir genel Salmonella enfeksiyon oranı (100,000 kişide) görülmüştür. Orak hücre anemisi olan çocukların invaziv salmonella kapma olasılığı yetişkinlere göre daha fazladır ve emzirilmeyen çocukların ciddi enfeksiyonlar geliştirme olasılığı daha yüksektir. Orak hücreli anemisi olan kişilerde bu durum, yaygın bir septisemi nedenidir (Wright *et al.* 1997, Elbashier *et al.* 2003). Non-typhoidal salmonella, HIV pozitif bireyler arasında sık görülür ve hastalık, özellikle yaşlılarda ve bağışıklık sistemi zayıf olanlarda yüksek ölüm oranıyla bağlantılıdır (Gordon *et al.* 2002; Berkley *et al.* 2005). Mide asidini düşüren bazı ilaçlar, özellikle sıtma ve yetersiz beslenmenin yaygın olduğu yerlerde Salmonella enfeksiyonu riskini artırabilir.

2.3.4 Patojenez ve virülans faktörleri

Flagellar antijenik (H) flagella, adezyon sistemleri, plazmitler, kapsül veya Salmonella'yı korumak ve fagositozu engellemek için koruyucu bir tabaka olarak çalışan Ag yüzey antijenleri ve sekresyon sistemleri; Salmonella NTS'nin (tip 111 salgılama sistemleri) virülans bileşenleri arasındadır (Daigle 2008, Sabbah *et al.* 2019). Enterotoksin; bağırsaklara zarar verir, termolabil endotoksin; ateş ve çeşitli başka semptomlara neden olur ve termostabil sitotoksin; ökaryotik hücre protein sentezini yavaşlatır ve konakçı kan

hücresi tek tabakalarını kırar (Ashkenazi *et al.* 1988). Bakteriler soğuk, sıcak, asidik ve yüksek tuz seviyeleri gibi zorlu ortamlarda yaşayabilir ve biyotik ve abiyotik yüzeylerde gıda ile temas eden yüzeylerde yayılmalarına yardımcı olabilecek biyofilmler oluşturabilirler.

Salmonella asidik koşullara karşı savunmasız olduğundan ve bu nedenle normal mide asiditesine sahip insanları enfekte etmek için çok sayıda koloniye (>610) ihtiyaç duyduğundan, bu enfekte hayvanlar genellikle hastalık belirtileri göstermezler. Salmonella enfeksiyonuna, bağ dokusuna salınmadan önce bağırsak epitel hücreleri tarafından emilen tifo dışı Salmonella neden olur. İshal, ateş (>39°C), mide krampları (maruziyetten 12-72 saat sonra), bulantı ve kusmayı içeren ana aşamada çoğalmaya başlar (Adzitey *et al.* 2019). Esasen ishale, Shiga toksini (SLT) ile karşılaştırılabilir kimyasal üreten bakteriler neden olur.

İki serotip, *S. dublin* ve *S. choleraesuis*, özellikle üç aylıktan küçük çocuklarda ishal, septik şok ve ölüm olmaksızın uzun süreli ateşe yol açan bakteremiye neden olur (Davis 1981, Nelson and Granoff 1982). Salmonella virülansı, bir Salmonella suşunun ne kadar tehlikeli olduğunun bir ölçüsüdür. *Salmonella enterica* serovar Anatis asemptomatik bir fenotip iken, *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis tarafından üretilen septisemi ölümle sonuçlanabilir ve yaşlı insanlarda bakteriyel anevrizmalar ortaya çıkabilir (Guo *et al.* 2018). Enteritidis, NTS enfeksiyonu olup potansiyel olarak bakteremiye ve *İdrar Yolu Enfeksiyonu* gibi bağırsak dışında sorunlara yol açabilir (İYE, menenjit, endokardit ve pnömoni, bağışıklık yetmezliği veya diğer tıbbi durumları olanlarda daha sık görülür) (Arii *et al.* 2002). Bazı Salmonella suşları latent olmasına rağmen (örneğin orak hücreli anemi), tifo olmayan Salmonella suşlarının sistematik sıklığı sağlıklı insanlarda da görülebilir. Bu ise genellikle dizanteri semptomlarına neden olan *S. typhimurium*'dan kaynaklanır (Kurtz *et al.* 2017).

2.3.5 Salmonella aşısı

İnvaziv NTS ve S.typhi aşıları insan kullanımı için onaylanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü; *S.Typhi*'ye karşı üç aşı önermektedir. Typhoid Conjugate Vaccine (TCV); tetanoz toksin

proteinine bağlı altıncı polisakkarit antijeni içeren ve altı aylıktan küçük çocuklar ve 45 yaşından büyük yetişkinler için onaylanmış bir aşıdır. 2 yaş ve üzeri kişiler için saf Vi antijeni (genellikle ViCPS aşısı olarak anılır) bazlı enjekte edilebilir konjuge olmayan polisakarit aşısı; 6 yaş ve üstü kişiler için canlı atenüe oral Ty2la aşısı (World Health Organization 2020).

2.4 Bir Bakteri Türü Olarak *Shigella*

Shigella bakterileri, insan gastrointestinal sisteminde yaşayan ve *E. coli* bakterileriyle yakından bağlantılı hücre içi bakteriyel patojenlerdir (Parsot 2005). Basiller Dizanteri, Shigellosis gibi isimlerle anılan bu bakteri, bir asırdan fazla bir süre önce 1898'de keşfeden bilim adamı Kiyoshi Shiga'nın adını almıştır. Genellikle basiller dizanteri olarak bilinen şigelloza neden olur (Percival *et al.* 2004).

2.4.1 Antijen türleri ve sınıflandırma

Shigella'nın bilimsel sınıflandırması aşağıdaki gibidir:

- *Shigella*, bir bakteri türüdür.
- Proteobakteri, bir bakteri filumudur.
- Aile: *Enterobacteriaceae*
- Sınıf: Gammaproteobacteria
- Takım: Enterobacteriales
- Cins: *Shigella*

Biyokimya ve antijen (O) testlerindeki varyasyonlara dayalı olarak keşfedilen dört alt gruba ayrılırlar:

- *S. dysenteriae* grubu (15 serotip).
- *S. flexneri* serogrubu B (9 serotip).
- *S. boydii*'nin C serogrubu (19 serotip).

- *S. somnei*'nin D serogrubu (1 serotip) (Abbas *et al.* 2017).

2.4.2 Shigella flexneri

S. flexneri, sanayileşmemiş ülkelerde beş yaşın altındaki çocuklarda görülen diyare enfeksiyonlarının %60'ını oluşturan dünyadaki en yaygın Shigella türüdür. *S. flexneri*, düşük mide asiditesi varlığında asit direnci genlerini değiştirerek daha düşük bir mide dozunun geçmesine izin verir. Sonuç olarak *S. flexneri*; Flexi 2a alt tipleri, hastalığa neden olan tahmini 100 hücreli bir *S. flexneri* dozu ile diğer türlerden daha bulaşıcıdır.

2.4.3 Shigella dysenteriae

1960'ların sonlarından bu yana, meydana gelen bir *S. dysenteriae* salgını Orta Amerika, Güneydoğu Asya ve Sahra Altı Afrika'ya yayılarak siyasi kargaşa ve doğal afetlerin olduğu yerlerdeki nüfuslara zarar vermiştir. Dizanteriye neden olan bir bakteri olarak *S. dysenteriae*, tip 1 duyarlı popülasyonları enfekte eder ve dizanteri küçük okul öncesi çocuklar, kreşlerdeki çocuklar ve hapsedilen kişiler arasında önde gelen ölüm nedenidir. Son yıllarda da birçok büyük kentsel alanda endemik Shigella salgınları meydana gelmiştir (Chida *et al.* 2000; Hilbi *et al.*1998).

2.4.4 Shigella boydii

Başlangıçta Boydi olarak adlandırılan altı farklı *Shigella boydii* türü vardır ve bunlara farklı yazarlar tarafından beş başka tip daha eklenmiştir, bazı nadir istisnalar mannitol pozitiftir, hepsi kendi tip antijenlerini içerir, ancak bazıları diğer türlerde ortak olan ikincil antijenleri içerir. Alt grup ve bazı AD türleri, tümü kendi tip antijenlerini içerir, ancak bazıları alt grubun diğer türleri ve bazı AD türleri için ortak olan ikincil antijenleri içerir. Bu alt grupta, ana antijenleri bazı (Livio *et al.* 2014) Escherichia türleriyle özdeş olan türler de vardır.

2.4.5 Shigella sonnei

Yıllık tahmini insidansın yüzde 75'i ile *S.sonnei* iki şekilde gelir ve farklı antijenlere sahiptir, tüm vakaların %24'ünü oluşturan gelişmiş ülkelerde şigellozun ikinci ana nedenidir (Livio *et al.* 2014, Scallan *et al.* 2011).

2.4.6 Fizyolojik özellikler

Shigella, 5.5 ile 6.5 arasında büyüme için optimum asidik pH değerine sahip gram negatif, hareketsiz, fakültatif, anaerobik, sporofit bir bakteridir. En iyi 10-40°C sıcaklık aralığında büyür ve 37°C optimum sıcaklıktır. Kolonileri 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra, 2 mm çapında, dairesel şekilli, dış bükey, tam kenarlı ve pürüzsüz bir yüzeyde ortaya çıkar ve XLD besiyerinde pembe ila kırmızı renkte büyür. Mac ve SSA besiyerlerinde renksiz kolonileri (Bopp 1999) üretmemeleri ile karakterize edilir (Assefa and Gima 2019).

S.flexneri serotip (6) ve serotipler (13) -14 hariç H_2S üretmeyen, geri dönen *S.boydii* türleri, *S.sonnei* modeli, cins dışında indol halkası üretiminde heterojen sitratlar için tüketilmeyen metil kırmızısı testi için pozitiftir. Shigella, MacConkey'de (2-1) laktozu fermente edememesiyle ayırt edilir. Sitokrom oksidaz, üreaz ve ornitin karbonhidrat enzimi üreten tip *S. sonnei* dışında sitokrom oksidaz, üreaz veya ornitin karbonhidrat enzimi üretmez (Percival *et al.* 2004, Assefa and Gima 2019).

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Laboratuvar ekipmanı

Çizelge 3.1'de bu çalışmada kullanılan tüm cihazlar özetlenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

	CİHAZ ADI	ÜRETİCİ
1	Otoklav	HIRY AMA (Japonya)
2	Su banyosu	Memmert (Almanya)
3	Top Safe	LDBOOOO
4	İnkübatör	Memmert (Almanya)
5	Manyetik karıştırıcı ile sıcak plaka	ARE (İngiltere)
6	Millipore filtre (0.22 mm)(0.45 mm)	ALBT Difco (ABD)
7	Koloni sayacı	Gallen kamp (İngiltere)
8	Vorteks	Stuart (İngiltere)
9	pH-metre	OHUS ST210
10	Hassas terazi	Kika-werk Vf-2
11	Santrifüj	Eppendorf (Almanya)
12	Fırın	Memmert (Almanya)
13	Çalkalayıcı inkübatör	Gallen kamp (İngiltere)
14	Soğutucu santrifüj	Hettich (Almanya)
15	Distilatör	GFL (Almanya)
16	Saat	ISOLAB
17	Buzdolabı	Archlic (Türkiye)
18	Bileşik optik mikroskobu	Optica
19	Mikropipet 10,100 ve 1000 µL	Oxford – ABD
20	Bunsen burner	TESTED (İngiltere)
21	Vitek 2 kompakt	(ABD)

3.1.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler

Çizelge 3.2'de mevcut çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik malzemeler ile bunları üreten firmalar ve menşei gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik materyallerin tablosu

	SARF MALZEMELERİ	ÜRETİCİ
1	HCL hidroklorik asit	BDH (İngiltere)
2	Konsantre sülfürik asit H_2SO_4	BDH (İngiltere)
3	Magnezyum sülfat asidi $MgSO_4$-$7H_2O$	Fluka-Garanttie
4	Magnezyum tuzu	Oxoid (Birleşik Krallık)
5	Tris-Hcl	Sigma (Almanya)
6	Jelatin ve jelatin çözeltisi %0.01	Sigma (Almanya)
7	Sodyum monohidrojen fosfat Na_2HPO_4	BDH (İngiltere)
8	Agar agar	Himedia (Hindistan)
9	Sodyum hidroksit NaOH	BDH (İngiltere)
10	%75 %95 Etil alkol	BDH (İngiltere)
11	Gliserol	BDH (İngiltere)
12	Sodyum klorür NaCl	BDH (İngiltere)
13	Seder yağı	BDH (İngiltere)
14	Fenol kırmızısı	BDH (İngiltere)
15	$CaCl_2$	BDH (İngiltere)
16	NH_4Cl	BDH (İngiltere)
17	Üre katkısı	Mastdiagnostic (ABD)
18	Trypton	BDH (İngiltere)
19	McFarland Standard	Kimball Ltd Sudan
20	Kovac reaktifi	B.D.H.chemical Japonya
21	Kristal mor	CHEM-Ltd (Çin)
22	Gram boyama	Atom scientific (BK)
23	Letofenol cotton Mavi	Atom scientific (BK)

3.1.3 Laboratuvar cihazları

Çizelge 3.3'de mevcut çalışmada kullanılan laboratuvar ekipmanları, üreticileri ve menşei gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan laboratuvar aletleri

	LABORATUVAR ALETLERİ	ÜRETİCİ
1	10 mL ve 5 mL'lik plastik zirai kaplar	Biozek (Hollanda)
2	Forseps çifti	İngiltere
3	Döngü	İngiltere
4	Tel döngüler	Memmert (Almanya)
5	Transport pamuklu sürüntü çubuğu REP	Çin
6	Steril plastik test tüpleri - boyut 103 cm	Biozek (Hollanda)
7	Test tüpleri (Pyrex)	Biozek (Hollanda)
8	Cam mikroskop slaytı	Bomix China
9	Şişeler (Pyrex)	ABD
10	50 mL steril plastik santrifüj tüpü	Biozek (Hollanda)
11	Laboratuvar tüpü desteği (metal ve plastik)	İngiltere
12	Filtre kâğıdı	Biofil (Çin)

3.1.4 Reaktifler

Çizelge 3.4'te bu çalışmada kullanılan reaktifler, üreticileri ve menşeileri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan reaktifler

	REAKTİF ADI	**ÜRETİCİ**
1	Kovacs reaktifi	BDH(İngiltere)
2	Oksidaz reaktifi (N-N-N-N) Tetrametil-parafenilen diyamin dihidroklorür	BDH(İngiltere)
3	Katalaz reaktifi hidrojen peroksit çözeltisi %3 H_2O_2	BDH(İngiltere)
4	Barritt reaktifi	BDH(İngiltere)
5	Metil kırmızısı reaktifi	BDH(İngiltere)
6	Voges-Proskauer reaktifi	BDH(İngiltere)

3.1.5 Gram boyama, çözeltiler

Bakteriyel boyamada, kenarları boyamada ve kandidada; Kristal viyole (1/10 g), (iyot artı 20g/L potasyum iyot L/(10g Lugols iyot) ve boya olarak %95 etanol ve zıt boya olarak saf suda %0,5 Safraninden oluşan boyama sistemi kullanılmıştır. Boyama işlemi sırasında alkol solüsyonu buharlaşarak kenarların etrafında bir tortu bırakarak gözle görünür şekilde boyutu arttırdığından, ana boya olarak, kristal viyole boya, alkol solüsyonuna koyulmuştur (Tille 2013).

3.1.6 Laktofenol pamuk mavisi

Metil mavisi ve laktofenol (fenol, laktik asit ve gliserinin sudaki çözeltisi) karışımı olan hazır boyadır. Mantar yapılarının görüntülenmesinde kullanılmıştır. Metil mavisi mantar hücre duvarlarını parlak mavi bir renge boyarken, laktofenol dengeleyici bir bileşik görevi görür (Schmauder *et al.* 1997).

3.1.7 Antibiyotik tabletler

Çizelge 3.5'te çalışmada kullanılan antibiyotikler, konsantrasyonları, bunları üreten firmalar ve menşeileri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan antibiyotikler

	ADI	KODU	KONSANTRASYON	ÜRETİCİ
1	Kloramfenikol	C	30	Oksoid (BK)
2	Ampisilin	AM	10	Oksoid (BK)
3	Imipenem	IPM	10	Oksoid (BK)
4	Amikasin	AK	30	Oksoid (BK)
5	Siprofloksasin	CIP	5	Oksoid (BK)
6	Sefiksim	CFM	5	Oksoid (BK)
7	Trimethoprim	TMP	25	Oksoid (BK)
8	Gentamisin	GM	10	Oksoid (BK)
9	Sefritakson	CRO	30	Oksoid (BK)
10	Sefotaksim	CTX	10	Oksoid (BK)
11	Amoksisilin	AMX	25	Oksoid (BK)
12	Azitromisin	AZM	15	Oksoid (BK)
13	Klindamisin	CA	15	Oksoid (BK)
14	Pencillin	P	10	Oksoid (BK)
15	Rifampin	RA	10	Oksoid (BK)
16	Spirmisin	SP	100	Oksoid (BK)

3.2 Çözeltilerin ve Tamponların Hazırlanması

3.2.1 Fizyolojik tuzlu su çözeltisi (%0,9) - Normal tuzlu su çözeltisi

Duyarlılık testi için bakteri süspansiyonunun hazırlanmasında kullanılmış ve 900 mL distile suya 8,5 g NaCl eklenerek hazırlanmış ve otoklav ile sterilize edilmiştir (Harley and Prescott 2002).

3.2.2 Macfarland standart çözeltisi

- Çözelti A: (1,175) g baryum klorürün 100 mL distile su içinde çözülmesiyle %1 konsantrasyonda hazırlanmıştır.
- Çözelti B: 99 mL distile suya 1 mL konsantre asit eklenerek %1 konsantrasyonda hazırlanır. (0,05) mL çözelti A'ya (9,95) mL çözelti B eklenerek ve çözeltiyi iyice karıştırarak 1.5x10⟧ ^8 hücre konsantrasyonuna eşit bir bulanıklık elde etmek için hazırlanan Tüp No. ml, kullanılır ve tüp, mikrop sayısını tahmin etmek için kullanılana kadar bir derece oda sıcaklığında karanlık bir yerde tutulur.

3.2.3 Magnezyum tuzu düzenleyici çözelti

Tampon solüsyon bir litre "1M" Tris- "HCl (pH" 7,5) "] [2%" jelatin; "2g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; Hazırlama ve izolasyonda kullanılan 5,8 g, NaCl 5; mL, 50 mL,┤" Bakteriyel faj verilen talimatlara göre 7,5 lM Tris-HCl (pH) solüsyon şeklinde hazırlanan 0,2 M HCL çözeltisi,

a. Tris aminometan hidroksimetil (0,2 M, 24,2 g/1L "distile su")

16,5 mL (A) solüsyonuna 50 mL solüsyon (B) eklenerek ve aşağıdaki Denklem (3.1), Denklem (3.2) ve Denklem (3.3)'e göre toplam 200 mL hacme seyreltilerek hazırlanmıştır:

$$\frac{\text{aritesi n}}{\text{Çözeltinin hacmi (litre) v}} = M \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) \text{molarite} \quad (3.1)$$

$$\frac{\text{miktarı n}}{\text{Çözücü kütlesi (kg)}} = \text{m molarite} \quad (3.2)$$

$$(\text{mililitre}) 1000 * \frac{\text{Ağırlık (g)}}{\text{Moleküler ağırlık (kg)}} = \text{molarite} \quad (3.3)$$

3.2.4 NaOH çözeltisi

Kültür ortamının asidik Dal'ının alkalinitesini ayarlamak için hazır bir çözelti kullanılmıştır.

3.2.5 HCl çözeltisi

Kültür ortamının asiditesini ayarlamak için hazır çözelti kullanılmıştır.

3.3 Reaktiflerin Hazırlanması

3.3.1 Kovacs reaktifi

Kovacs reaktifi, aynı zamanda Ehrlich reaktifi olarak da adlandırılır ve reaktif, 5 g alfa-dimetil amino benzaldehitin 75 mL amil çözeltisi içinde çözülmesi ve buna 25 mL konsantre hidroklorik asit eklenmesiyle hazırlanmıştır, daha sonra indol halkasının oluşumunun saptanmasında kullanılana kadar 4°C'de tutulmuştur (Harley and Prescott 2002).

3.3.2 Metil kırmızısı reaktifi

Asitlik fonksiyonuna (6,3 – 4,2) sahip karbonhidratların anaerobik fermantasyonu sonucu asitliği tespit etmek için kullanılmıştır. (0,1) g metil kırmızısının 300 mL etil alkol (%95) içinde çözülmesi ve hacimce seyreltilmesiyle hazırlanmış ve hazırlanan bu solüsyon 500 mL distile suya tamamlanmıştır (Barrow and Feltham 1993)

3.3.3 Voges-Proskauer reaktifi

Barrett's Reaktif A veya VPI Reaktifi olarak adlandırılan 5 g alfa-naftol çözülüp hacmi 100 mL %96 alkole tamamlanarak siyah kağıda sarılı kahverengi bir şişede muhafaza

edilerek hazırlanmıştır. 1 mL distile su karıştırıl, tüp çalkalandıktan sonra 45-50°C'de 2 saat su banyosunda veya 4 saat 37°C'de ısıtılmıştır (Mahon *et al.* 2014).

3.4 Kültür Ortamının Hazırlanması

3.4.1 Besin agarı

Bakteri kolonilerinin kısa bir süre (hafta-ay) büyümesi ve korunması için ondan bazı habitatlar yapılmıştır. Üreticinin talimatlarına göre (Difco) 28 g Nutrient Akar Tozunu çözerek ve hacmini 1 litre distile suya tamamlayarak hazırlayıp, bu karışımı tüm bileşenlerin tamamen çözünmesi için su banyosunda karıştırarak ısıtıp, besin ortamı bir otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve ardından 45°C'ye soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra besin agarı katılaşana kadar Petri kaplarına dökülmüş, ardından herhangi bir büyüme olmadığından emin olmak için tüm gün inkübatöre koyulmuş ve sonra kullanılacağı zamana kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.4.2 Ortam MacConkey agarı

Laktozu fermente etme kabiliyeti temelinde bağırsak ailesini izole etmek ve ayırmak için seçici bir ortam olarak kullanılmıştır. (51,5) g besiyeri eritilerek ve hacmi 1 litre distile suya tamamlanarak üreticinin (Mastdigostic UK) talimatlarına göre hazırlanmış, 100°C sıcaklıkta yarım saat su banyosuna yerleştirilmiş ve daha sonra otoklavda (sıcaklık 121°C ve basınç 1,5°C) 15 dakika sterilize edilmiş, ardından sterilize edilmiş Petri kaplarına dökülere ve buzdolabında saklanmıştır.

3.4.3 Ksiloz lizin desoksikolat (XLD)

Dışkı örneklerinden Shigella (Ksiloz fermantasyonu yok) ve Salmonella (Ksiloz fermantasyonu) arasında ayrım yapmak ve ayırt etmek için diferansiyel seçici kültür ortamı olarak kullanılmıştır. 55,4 g kültür ortamı çözülerek üreticinin talimatlarına (Himedia-Hindistan) göre hazırlanmıştır. Hacmi (1) litre damıtılmış suya tamamlanarak

bir su banyosunda 100°C'ye kadar kaynatılmıştır. Ardından kapağı kısmen kaldırarak 45-50°C'ye soğutulmuş, köpürmeyi önlemek için iyice karıştırılmış ve aseptik olarak Petri kaplarına dağıtılmıştır.

3.4.4 Ortam agar salmonella shigella agarı

Salmonella ve birçok bağırsak Shigella türünü izole etmek için seçici besiyeri olarak kullanılmış ve Oxoid üreticisinin talimatlarına göre 60 g besiyeri çözülüp hacmi bir litre deiyonize veya distile suya tamamlanarak iyice karıştırılıp ısıtılarak hazırlanmıştır. Sık sık karıştırdıktan sonra bir dakika kaynamaya bırakıldıktan sonra 50°C'ye soğutularak sterilize edilmiş kaplara dökülmüştür.

3.4.5 Eozin metilen mavisi agarı (EMB)

Genellikle dışkı koliform bakterileri için laktoz ve/veya sakarozun fermentasyon gücünün bir göstergesi olan metalik yeşil bir parlaklık eşliğinde *Enterococcus faecalis* bakterilerinin izolasyonu için kullanılmıştır. Üretici Mastdigostic UK'nin talimatlarına göre hazırlanmıştır. 35,96 g süspanse edilip, hacmi 1000 mL distile suya tamamlanmış ve süspansiyon homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra besiyerinin tamamen çözünmesi ve otoklav ile 121°C sıcaklıkta, 1,5 atmosfer basınçta, 15 dakika sterilize edilmesi için su banyosunda kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. 45-50°C'ye soğutularak, metilen mavisini oksitlemek (yani mavi rengini eski haline getirmek için) için ortamı sallayarak atık askıya alınmış ve geriye kalan örnekler steril Petri kaplarına dökülmüştür.

3.4.6 Triptikaz soya agarı

Ortam, faj ısı toleransı deneylerinde salmonella kolonilerini büyütmek için kullanılmıştır. Rashmi (Hindistan) üreticisinin talimatlarına göre 40 g besiyeri çözülüp hacmi 100 mL distile suya su banyosunda tamamlanarak hazırlanmış, ardından otoklavda 121°C

sıcaklıkta ve 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiş ve 50°C'ye soğutularak, sterilize edilmiş Petri kaplarına dökülmüştür.

3.4.7 Triptikaz soya besiyeri

Salmonella ve Bakteriyofaj kolonilerinin büyümesi için besin taşıyıcı besiyeri olarak kullanılmıştır. pH fonksiyonu, 25°C'de bir pH metre ile 7,3'e ayarlanmıştır. Rashmi (Hindistan) üreticisinin talimatlarına göre 3 g besiyeri çözülüp hacmi 100 mL distile suya cam bir kapta tamamlanarak ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Tamamen çözünene ve cam tüp başına 10 mL ortam yerleştirilerek dağıtılana kadar, tüm tüpler bir otoklavda 121°C'de 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiş, ardından steril tüpler oda sıcaklığında tamamen soğutularak 4°C'de buzdolabına yerleştirilmeden önce tüp kapaklarının sıkıca kapanması sağlanmıştır.

3.4.8 Middle agar Mueller Hinton agarı

Ortam, antibiyotiklere duyarlılığı test etmek için kullanılmış ve pH işlevi, 25°C'de 7,3 = pH'ye ayarlanmıştır. Hintli üretici Himedia'nın talimatlarına göre 40 g besiyeri çözülüp hacmi 100 mL distile suya cam beher içinde su banyosunda tamamlanarak hazırlanmış ve ardından 121°C sıcaklıkta sterilize edilmiştir. 15 dakika boyunca 1,5 atmosferlik bir basınç uygulanmış, daha sonra ortam 50°C'lik bir sıcaklığa soğutularak sterilize edilmiş Petri kaplarına dökülmüştür.

3.4.9 Beyin kalp infüzyonu besiyeri

Besiyeri su içinde kullanılmış ve ortama %10 gliserol eklenerek bakteri kolonileri korunmuştur. Et suyu 37 gram BHI tozu çözülerek hazırlanmış ve hacmi 1000 mL distile suya üretici firmanın (Himedia Co. - Hindistan) talimatlarına göre tamamlanarak cam şişelere dağıtılmış ve basınç altında otoklavda sterilize edilmiştir (121°C ve 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika). Ardından örnekler soğutularak sıkıca kapatılmış ve kullanılana kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.4.10 Beyin kalp infüzyonu agarı

15 g agar tozu eritilmiş ve hacmi üreticinin (Himedia Co-India) talimatlarına göre bir litre distile suya doldurlarak, otoklavda (121°C ve 15 dakika basınç 1,5 atmosfer) sterilize edilmiştir. Bakteri kolonilerini büyütmek ve korumak amacıyla kullanılan cam şişelerde eğik bir konumda dağıtılmıştır.

3.4.11 Sabouraud dekstroz agarı

Fransız firmasının (LBA) talimatlarına göre Bağırsak Candida yetiştirilmesi, büyütülmesi ve muhafazası için 65 g SDA tozunun bir su banyosunda bir litre distile suya hacmi tamamlanarak ve hacmi tamamlanarak kullanılmıştır. 121°C sıcaklıkta ve 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika otoklav ile sterilizasyon sonrasında besiyeri 50°C'ye soğutulduktan sonra kültür ortamının litresi başına 10 mL %95 metil alkole kloramfenikol tozu (50 mg ve tam hacimde çözülerek hazırlanmıştır) ilave edilerek steril Petri kaplarına dökülerek 4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.4.12 CHROM candida agarı

Üreticinin Himedia (Hindistan) talimatlarına göre kültür ortamının 47,7 g'sini çözerek ve hacmi 1 litre damıtılmış suya tamamlayarak ve bir su banyosunda 100 mm'ye kadar kaynayana kadar ısıtma ile iyice karıştırarak hazırlanmış ve kapak kısmen çıkarılmış ve daha sonra 45-50°C'ye soğutulmuştur. Candida türlerinin izolasyonu ve teşhisi için seçici ve ayırıcı bir besiyeri olarak CHROM Candida agarı, kültürlenmiş Candida kültürlerinden steril bloblarla sabroid besiyerinde aşılanmış ve (2∓35)°C'de üç gün süreyle inkübe edilmiştir. CHROMagar maya büyümesini destekler. Mantarların çoğu inhibe edilirken, çoğu bakteri kloramfenikol varlığı nedeniyle inhibe edilir. Koloni rengi ve şekli tanımlama amacıyla kullanılmıştır.

3.4.13 Tetra tiyonat besiyeri

Salmonella türlerini büyütmek ve izole etmek için kullanılmıştır ve asitlik fonksiyonunu 25°C'de pH = 7,3'te ayarlanmıştır. Hintli üretici Himedia'nın talimatlarına göre 40 g besiyerinin çözülmesi ve hacminin bir su banyosunda 100 mL distile suya doldurulması, besiyerinin 50°C sıcaklığa soğutulması ve steril plastik şişelere dökülmesiyle hazırlanmıştır.

3.5 Hasta Yapısı ve Numune Toplama

Bu çalışma kapsamında; Kerkük İli (Irak)'ndeki Genel Çocuk Hastanesi, Azadi Eğitim Hastanesi, Kerkük Genel Hastanesi'ne yatan ve gelen çocuk hastalardan 200 örnek alınmıştır.

Çalışmaya dahil olan örneklerin genel kriterleri şu şekildedir: Kerkük ilindeki halk sağlığı laboratuvarlarına farklı il ve ilçelerden her iki cinsiyette de 1 gün - 14 yaş gönderilen sürüntüler; Çocuklardan alınan patolojik örnekler 170 dışkı örnekleri; 30 gastroenterit ve değişen şiddette ishalden muzdarip çocuklardan 1 gün ila 14 yaş arası rektal sürüntüleri; sulu dışkı, mukus benzeri dışkı ve kanlı dışkı gibi anormal dışkı, 24 saat içinde 3 veya daha fazla, buna eşlik eden 38°C'ye kadar sıcaklık artışı, baş ağrısı, titreme ve kusmalı veya kusmasız genel yorgunluk ve karın ağrısının eşlik ettiği durumlar.

Bir dışkı örneği (3-5 g) üç bölüme ayrılmıştır. İlk kesit MacConkey agar plaklarında direkt kültür için alınmış ve 35,5°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İkinci kesit aynı dışkı örneği için SDA'da direkt kültür için alınmış ve 37°C'de bir süre inkübe edilmiştir (24-48 saat). Üçüncü kısım Salmonella bakterisini izole etmek için 0,5 mL iyot ilavesiyle 10 mL Tetra tionat sıvı besiyeri içeren steril numaralı tüplere aktarılmıştır. Tüpler 37°C'de 6-14 saat inkübe edilmiştir. Hastalığın erken evrelerinde antibiyotik almadan önce dışkı örnekleri alınmıştır. Dışkı örnekleri, dışkıda beyaz ve kırmızı kan hücrelerini kontrol etmek için alınır alınmaz mikroskop altında incelenmiştir. Bakteri örnekleri incelenmek üzere ilgili hastaneerin laboratuvarlarına aynı gün nakledilmiştir.

3.6 Bakteri Örneklerinin Kültürü

Numuneler, üreticinin talimatlarına göre kültürlenmiş bakterilerden steril pipet ile bir damlanın önceden hazırlanmış MacConkey, SSA, XLD ortamına aktarıldığı besin taşıyıcısının inkübasyon süresinden sonra kültürlenmiştir. Bulaşıklar planlama yöntemiyle aşılandığı için steril (loop) bir şekilde yayılmış, ardından yemekler 35,5°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün tüm kaplar incelenmiş ve Mac besiyerinde renksiz görünen laktozu fermente etmeyen bakteri kolonileri, XLD besiyerinde kırmızı koloniler ve SSA besiyerinde NA eğimli besin ortamı veya BHA kalp-beyin infüzyon ortamında soluk, renksiz, tam kenarlı koloniler izole edilmiş ve habitatlara aktarılmıştır. Slantlar 24 saat 37°C'de inkübe edilmiş, ardından Shigella ve Salmonella tanısını doğrulamak için API-E-20 testi gibi tanısal kemokimyasal testler yapılana kadar 4°C'de tutulmuştur (Abbas *et al.* 2017).

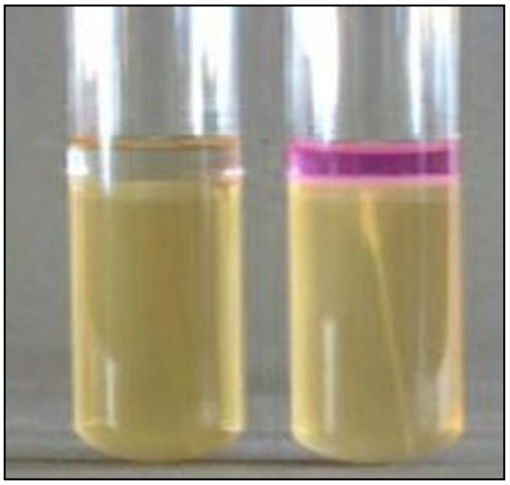
3.7 Mikroskopi Yöntemi

Salmonella, Shigella ve Candida bakterilerinin mikroskobik tanısında kullanılan hazır bir boya olan Gram boyama ile (Tille 2013) göre boyanan tüm izolatlar incelenmiştir.

3.8 Biyokimyasal Testlerle Tanı

3.8.1 İndol üretim testi

2,5 g Bacto Pepton tozu karıştırılarak ve hacmi 100 mL distile suya tamamlanarak, her tüpe 3 mL olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 120°C'de 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilerek peptonlu su ortamı hazırlanmış ve soğumaya bırakılmıştır. Pepton suyu tüplerine saf bakteri kolonileri aşılanmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra, ortamın yüzeyinde bir tabaka oluşturmak için Ehrlich reaktifi eklenerek birkaç dakika sonra iki tabaka arasında kırmızı bir halka göründüğünde, Şekil 3.1'de gösterildiği gibi pozitif test teyit edilmiştir.



Şekil 3.1 Sağda *morganella morganii* ve solda *enterobacter aerogenes* ile aşılanmış besiyeri indol test sonuçları (Leboffe and Pierce 2011)

3.8.2 Voges proskauer testi-metil kırmızısı

Bakterilerin glikozun asidik fermentatif son ürünlerini üretme kabiliyetini belirlemek için metil kırmızısı testi kullanılmıştır. Aynı MK-VP Broth'un iki tüpü glikoz broth suyu ile aşılanmış ve dört gün boyunca 37°C'de inkübe edilerek iki damla metil üzerine kırmızı reaktif solüsyonu ilave edilmiştir (sarı renk negatif reaksiyonu ve kırmızı pozitifi gösterir). Metil kırmızısı pH 4,4'te kırmızı, pH 6,2'de sarıdır. pH'da bu iki değer arasında turuncunun farklı tonları Şekil 3.2 görüldüğü gibidir. Kırmızı, pozitif bir sonucun tek gerçek göstergesidir. Bağırsak ailesinin üyelerini Gram-pozitif ve Gram-negatif basiller arasında ayrım yapmak için Focus Proskaure kullanıldığında; turuncu veya sarı ise negatiftir. Glikolizden asetoin üretebilen organizmaları belirlemek için aynı besiyerinden iki tüp glukozlu suda aşılanmış ve 37°C'de inkübe edilmiştir. 0,4 mL sulu potasyum hidroksit reaktif solüsyonu (%40) eklenerek çalkalandıktan sonra 0,5 mL Barrett reaktifi, ortamın yüzeyinde bir tabaka oluşturacak şekilde tüpün kenarına yerleştirilmiştir. Kırmızı mor bir halka göründüğünde olumlu sonuç alınır (Leboffe and Pierce 2011).



Şekil 3.2 Metil Kırmızısı testi. Solda *Escherichia coli* (MK-pozitif) ve sağda aerobik enterokok (MR-negatif) (Leboffe and Pierce 2011)

3.8.3 Sitrat kullanım testi

Simon Street'in dönümünün ortasındaki habitatlar, planlama yöntemiyle tek bir bakteri izolatı kolonisi ile aşılanmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ortamın renginin yeşilden maviye değişmesi, pozitif sonucun ve bir karbon kaynağı olarak bakteriler tarafından sodyum sitrat tüketiminin kanıtıdır (Morello *et al.* 2004).

3.9 API 20E Kullanarak Bakteri Tanısı

BioMerieux Api 20E Sistemi, enterobacteriaceae ve diğer modern Gram negatif bakteriler için bir teşhis sistemidir. Api 20E şeridi, kuru baz malzemeyi (orta) içeren 20 mikrotüp plastik mikrotüp içerir. Tüpler, her bir izolat için ayrı ayrı bakteri süspansiyonu ile inoküle edildi; bu, izole edilmiş ve genç bir bakteri kolonisi 5 cm^3'lük fizyolojik tuzlu su çözeltisine eklenerek hazırlanmıştır. Bazı mikrotübüller (ADH, LDC, OPC) dahil olmak üzere yağ ile kaplanmıştır. Bant, inkübasyon sırasında kurumaması için özel bir kaba konarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra (VP, IND, TDA) dahil olmak üzere bazı tüplere özel reaktifler eklenerek sonuçlar Api 20E'ye dayalı olarak sonuç sayfasına yazılmış ve yedi haneli bir kod üretilmiştir. Daha sonra Api 20E Analitik Profil İndeksi kullanılarak yorumlanmıştır. Monoamin oksidaz testi ayrı olarak yapılmış ve bu yirmi birinci testi oluşturmuştur. Çizelge 3.6 ise bu sistem için yirmi testi göstermektedir.

Tüplerde renk değişikliği, inkübasyon sırasında veya reaktiflerin eklenmesinden sonra gözlenir. Bu renkler bir kimyasal maddenin varlığını veya yokluğunu ortaya koyar ve bu nedenle sonuçlar gibi pozitif veya negatif olarak değerlendirilir. Son olarak sonuçlar Şekil 3.3'teki gibi sonuç sayfasına girilmiştir (Smith *et al.* 1972).



Şekil 3.3 API 20 şeridi. üst şerit aşılanmamıştır ve alt şerit, jelatin tüp dışındaki tüm sonuçlar için pozitiftir

Çizelge 3.6 Api 20E'de bulunan 20 biyokimyasal test sistemi

	TEST	REAKSİYON/ENZİMLER	NEGATİF	POZİTİF
1	ONP6	Beta-galaktosidaz	Renksiz	Sarı
2	ADH	Arginin dihidrotaz	Sarı	Kırmızı/Turuncu
3	LDH	Lizin dihidrotaz	Sarı	Kırmızı/Turuncu
4	ODC	Ornitin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı/Turuncu
5	CIT	Sitrat kullanımı	Soluk yeşil/sarı	Mavi-yeşil/mavi
6	H2S	H2S Üretimi	Renksiz/Grimsi	Siyah kalıntı/ince çizgi
7	URE	Üreaz	Sarı	Kırmızı/Turuncu
8	TDA	Triptofan deaminaz	Sarı	Kırmızımsı kahverengi
9	IND	Indol üretimi	Soluk yeşil/sarı	Pembe
10	VP	Jelatinaz	Difüzyon yok	Siyah pigment
11	GEL	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı/yeşilimsi sarı
12	MAN	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
13	INO	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
14	SOR	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
15	RHA	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
16	SAC	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
17	MEL	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
18	AMY	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı
19	ARA	Fermentasyon/oksidasyon	Mavi/mavi-yeşil	Sarı

3.10 RapID TM ONE Kullanarak Bakteri Tanısı Şeridi Oluşturulması

Gram negatif enterobakteriler ve oksidaz için 19 biyokimyasal test içeren bir şerittir. İnceleme aşağıdaki adımlarla gerçekleştirilmiştir (Smith *et al.* 1972):

1. İncelenecek bakterinin oksidaz tahlili için Gram negatif ve negatif olduğu doğrulanmıştır.
2. MacFarlane tüplerininkine benzer bir konsantrasyonda bir bulanıklık elde etmek için bakteri üremesi için seçici besiyerinden (Macconkey ortamı) izole edilmiş (1-3) koloniler eklenerek fizyolojik tuzlu su çözeltisi hazırlanmıştır. Üst şerit çıkarılıp sol tarafa katlanmıştır.
3. Sol taraftaki işaret kaldırılıp sola doğru katlanarak üst bandın bir kısmı çıkarılmıştır.
4. Her deliğe iki damla bakteri süspansiyonu konulmuş ve kapak hafifçe bastırılarak yerine geri getirilmiştir. Bant, bakteri süspansiyonunu mevcut çukurlar boyunca eşit olarak dağıtmak için hafifçe çalkalanmıştır. Bakteri süspansiyonunu şeridin tepesindeki çukurlar boyunca eşit olarak dağıtmak için çukurlar her iki tarafta çalkalanmıştır. Bakteri süspansiyonunun dağılımı, bant içindeki delikler boyunca doğrulanmış, ardından bant, 24 saat boyunca 37°C sıcaklıkta inkübatör içinde 45 derecelik bir açıyla yavaşça yerleştirilmiş ve reaktifler yerleştirilerek ürünler okunmuştur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Rapid TM one bandı

3.11 Vıtek 2 Compact Yoluyla Tanı

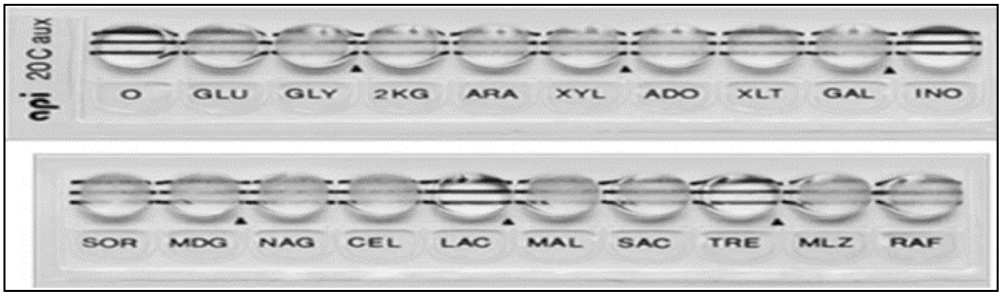
Biopharma'nın Vitek 2 kompakt Sistemi, kendi veri tabanı ile çok çeşitli mikroorganizmaların rutin teşhisi için ideal bir teknolojidir. VITEK2® basınç sisteminin verimliliği, gelişmiş kolorimetrik teknolojiye dayanmaktadır. Sistem, doğruluğu sağlamak için 64 kuyu içeren en yeni nesil VITEK test kartlarını okur - bu teknoloji ile her 15 dakikada bir üç farklı dalga kullanılarak ve daha fazla veri analiz edilebilir, bu da sonuçların doğruluğunu artırır. Vitec cihazının kiti (VITEK®2 GN KIT, USA) tipi bağırsak bakterilerini teşhis etmek için kullanılmış ve cihazın tüpleri hazırlanarak Cassete adlı özel kalıbına yerleştirilmiştir. Bu tüpler, cihazın 3 mL salin solüsyonu ile doldurulmuş ve daha sonra bakteri kolonilerinin bir kısmı bunlara yerleştirilmiştir. Teşhis edilecek olanlar 1-2 günlük iken koloniler steril iğnelerle tüplere aktarılmıştır.

Daha sonra tüpler bir vibratör ile iyice çalkalanarak asılı kalan madde homojen hale getirilmiş ve ardından sıkışan maddenin yoğunluğu cihaz için belirlenen limitleri aşmamak kaydıyla yoğunluk veya bulanıklık ölçer ile ölçülmüştür. Daha sonra kartlar tüplerin içine yerleştirilmiş ve portatif Barkod cihazı kullanılarak kartın seri numarası bilgisi girilmiştir. Lazer ışınları her kartın seri numarasına yönlendirilerek test için sadece on izolat içeren her şablon için özel bir listede hesap makinesine girilmiş ve daha sonra her izolat için bir sayı yazılıp veriler kaydedilmiş, ardından şablonu sönen ve ardından kapağı kapatan Filler adlı kart dolum kapısına yerleştirilerek Başlat düğmesine basılmıştır (Badr and Abbas 2017).

3.11.1 API 20C AUX yoluyla candida türleri tanısı

API 20C AUX ile teşhis Marcy bioMérieux (l'Etoile, Fransa) test şeridi, klinik olarak önemli mayalarda karbonhidrat biyokimyasal reaksiyonlarını temsil etmek için doğru bir yöntemdir. Etki mekanizması, kabarcık oluşumunu önleyerek pipetle nazikçe homojenleştirmek için yaklaşık 100 µL süspansiyon (API C solüsyonunda kandida kolonileri) yerleştirmeyi ve ardından beherleri kimyasal olarak kurutulmuş baz materyali içeren bir test şeridine aşılamayı içerir. API 20C AUX sistemi, 20 kuyucuklu tek kullanımlık plastik bir şeritten oluşur; ikisi hariç hepsi, kullanım profillerini belirlemek

için kurutulmuş substratlar içermekte ve küçük beherler bulanık görünmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 API 20C AUX test şeridi

Reaksiyonlar, bir karbonhidrat substratı içermeyen birinci reaksiyon kabı (0) ile karşılaştırılmıştır. Test şeritleri 29°C'de 24-72 saat inkübe edilerek, yutma reaksiyonlarının sonuçları okunmuş ve yedi basamaklı bir biyotip profil numarasına dönüştürülerek, API 20C AUX Kılavuzu ile birlikte sonuç sayfasına kaydedilen inkübasyondan sonra elde edilen bilgiler Candida'yı (Procop and Roberts 1998) tanımlamak için kullanılmıştır.

3.12 Salmonella ve Shigella Bakteri Duyarlılığı Testi

Tanısı konan ve izole edilen Salmonella bakterilerinin antibiyotiklere yanıtı Dünya Sağlık Örgütü tarafından tanımlanan Kirby ve Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Taze ekilen aktif koloniler, 37°C'de 24 saat inkübe edilen MacConkey agar üzerine alınmıştır.

Canlı hücrelerin sayısı, standart MacFarland tüplerinin ilk tüpüne kıyasla 810 hücre/cm^3 konsantrasyonunda sabitlenerek bakteri süspansiyonuna steril bir pamuklu çubuk yerleştirilmiş ve fazlalık, iç duvara bastırılarak süspansiyondan çıkarılmıştır. Tüpün ve sirkülasyonun ardından Mueller-Hinton-Acker besiyerine yayılarak oda sıcaklığında bırakılmıştır.

Birkaç dakika imbibisyon gerçekleşmesi için daha sonra bahsedilen antibiyotiklerin tabletleri çalışma materyalleri içerisinde ispatlanmış ve ilgili üretici firma tarafından (Oxoid) besiyerinin yüzeyinde steril pens ile temin edilen tabaklar 35,5°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve her bir tabletin etrafındaki büyüme inhibisyon alanının çapı ölçülmüştür ve tavsiyelere göre standart oranlarla karşılaştırılmıştır (CLSI 2011).

3.13 Candida Türlerinin İzolasyonu

3.13.1 Kültür ve numune alma

Tüm numuneler, ortamın litresi başına %10 antibiyotik kloramfenikol ile desteklenmiş Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) kültür ortamında doğrudan kültürlenmiştir. 37°C'de 1-3 gün inkübe edildikten sonra izolatlar steril şişelerde yarı katı slant kültür ortamına aktarılmış ve ayrıca steril şişelerde sıvı kültür ortamına aktarılmıştır, daha sonra 1-3 gün süreyle 37°C sıcaklıktaki inkübatöre yerleştirilmiştir. Beş gün sonra maya gelişimi içeren kültür ortamı tanıyı tamamlamak için kullanılana kadar buzdolabında tutulmuştur.

3.13.2 Candida izolatlarının direkt mikroskobik incelemesi

Candida türlerinin hazırlanan tüm sürüntüleri, üzerine bir damla laktofenol mavisi boyanın damlatıldığı temiz cam lamlar hazırlanarak ve gelişmekte olan koloni Candida türlerinin bir kısmı canlılara aktarılarak krom boya ve %10-20 Lctophenol cotten Blue boyası kullanılarak boyanmıştır, lam steril bir iğne kullanarak sterilize edilmiştir ve ardından lam yerleştirilmiştir. Boya, kandida hücre duvarındaki kitini bağlar (mavi-beyaz veya yeşil renkte parlar) ve 100 yağlı lensin büyütme gücü altında doğrudan mikroskop ile klinik örneklerdeki mantarları tespit etmek için hızlı ve hassas bir yol sağlar.

3.14 Candida türleri tanıması

3.14.1 CaC. agarının teşhis ortamı

İzole koloniler, steril bir yağ kullanılarak substeroid çekirdek ortamından kültürlenmiş ve CaC kültür ortamında kültürlenerek 1-3 gün boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir.

3.14.2 Germ tüpü testi (GT)

Bu test; *Candida albicans*'ı tespit etmek için kullanılan hızlı ve güvenilir bir testtir. Germ tüpü testi, C. albicans izolatlarının ilk tanımlaması için basit ve ekonomik bir prosedür sağlar (Bitew 2018). *Candida albicans*, izolatlar serumla aşılandığında ve 37°C'de yaklaşık 3 saat inkübe edildiğinde bakteriüri üretir. *C. albicans* izolatlarının yaklaşık %95'i bakteriüri üretir.

3.14.3 API 20CAUX tarafından candida tanısı

ApiC solüsyonunda Candida kolonilerinden hazırlanan yaklaşık 100 µL süspansiyon yerleştirilmiş ve bir pipet ile kabarcık oluşumu önlenerek nazikçe homojenleştirilmiştir. Şerit aşılanarak kabarcık oluşumunu önlemek için pipetin ucunu şişenin kenarına yerleştirerek bir APIC ampulünde hazırlanan süspansiyonla kaplar doldurulmuştur. Kapak daha sonra şerit üzerine yerleştirilmiş ve 29°C'de (~2°C) 48-72 saat süreyle çalkalanmıştır.

3.15 Bakteri İzolatlarının ve Candida'nın Korunması ve Bakımı

3.15.1 Kısa süreli koruma

Korunacak izolatlar, nütrient agar habitatlarında büyütülmüş ve 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 4°C sıcaklıkta tutulan bu izolatlar 3-4 haftada bir

periyodik olarak yenilenmeleri ve bakımları dikkate alınarak günlük çalışmalarda kullanılmıştır.

3.15.2 Uzun süreli koruma

Doğrulanan izolatlar, 850 µL gliserol %15 ile 5 mL AACAR/BHI broth içeren bir cam behere 150 µL alınarak bir mikropipet kullanılarak saf bakteri kültürü besiyeriden inoküle edilmiştir. Korunacak izolatlar büyütülerek, 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildikten sonra -80°C'de saklanmıştır. Esasen birkaç aydan bir yıla ve başka bir kullanıma kadar korumak için tercih edilen bu yöntem, saf bir kandida kültürü kolonisinde steril bir yağ kullanarak 5 mL sabroide dekstroz laktat habitatını aşılayarak kandida örneklerini korumak için de kullanılmıştır. Korunacak izolatlar büyütülür ve 37°C sıcaklıkta 24 süre inkübe edilir. İnkübasyondan 48 saat sonrasına kadar -80°C sıcaklıkta tutulur.

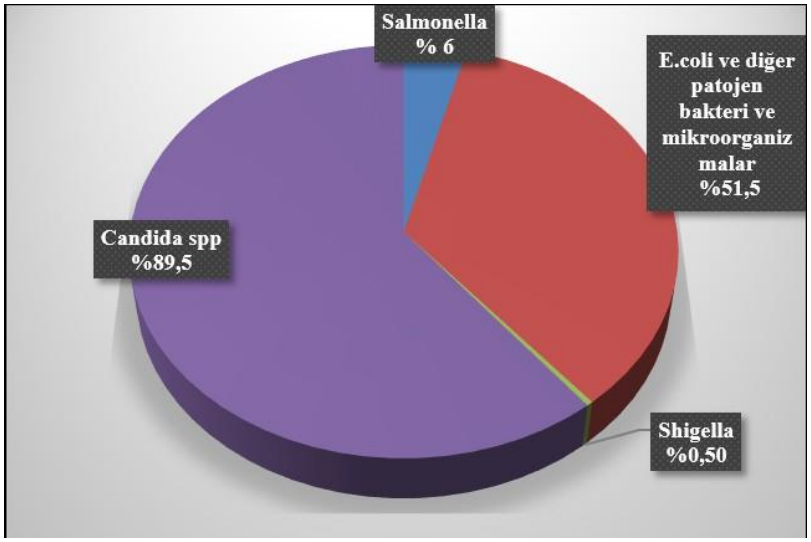
4 BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Çalışma Sırasında İzole Edilen Örnekler

Değişik şiddetlerde ishalden muzdarip olan çocuklardan alınan tolam 200 örnek arasında, 12 örneğin (%6 oranında) Salmonella bakterisi pozitif sonuç vermiştir. Yaşları yenidoğan ile 14 yaş arasında değişen pediatrik hastalarda mukus viskoziteli yarı sıvı ishalden incelenmiştir. Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi Shigella (%0,5), *E.coli* (%30), *Pseudomonas* (%5), *Klebsiella* (%7,5), *Citrobacter* (%4) ve Enterobacter (%5) gibi diğer patojen bakterilerin %51,5'i çocuklarda görülen ishal vakaları arasındadır. Ayrıca, 200 çocuktaki ishal örneğinden 179'u Bağırsak Candida türleri içermekte olup, bu sayı toplam içerisinde %89,5 orana sahiptir. Bir örnekte farklı Bağırsak Candida türleri izolatlarının bulunduğu kaydedilmiştir. Bağırsak Candida türleri de dışkıda izole edilmiştir. İlgili çizelgede de görüldüğü üzere çocuklarda %5,5 oranında Salmonella bakterisi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 İshali olan çocukların dışkılarından izole edilen bakteri izolatlarının yüzdesi

PATOLOJİK FAKTÖRLER	**POZİTİF SONUÇLAR**		**NEGATİF SONUÇLAR**		**TOPLAM**	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Shigella	1	%0,5	199	%99,5	200	%100
Salmonella	12	%6	188	%94	200	%100
Candida türleri	179	%89,5	21	%10,5	200	%100
Karşılıklı Salmonella & Candida türleri	11	%5,5	189	%94,5	200	%100
E.coli	60	%30	140	%70	200	%100
Enterobacter	10	%5	190	%95	200	%100
Citrobacter	8	%4	192	%96	200	%100
Klebsiella	15	%7,5	185	%92,5	200	%100
Pseudomonas	10	%5	190	%95	200	%100
E.coli ve diğer patojen bakteri ve mikroorganizmalar	103	%51,5	97	%48,5	200	%100



Şekil 4.1 İshali olan çocukların dışkılarındaki bakteri izolatlarının yüzdesine göre patojenlerin dağılımı

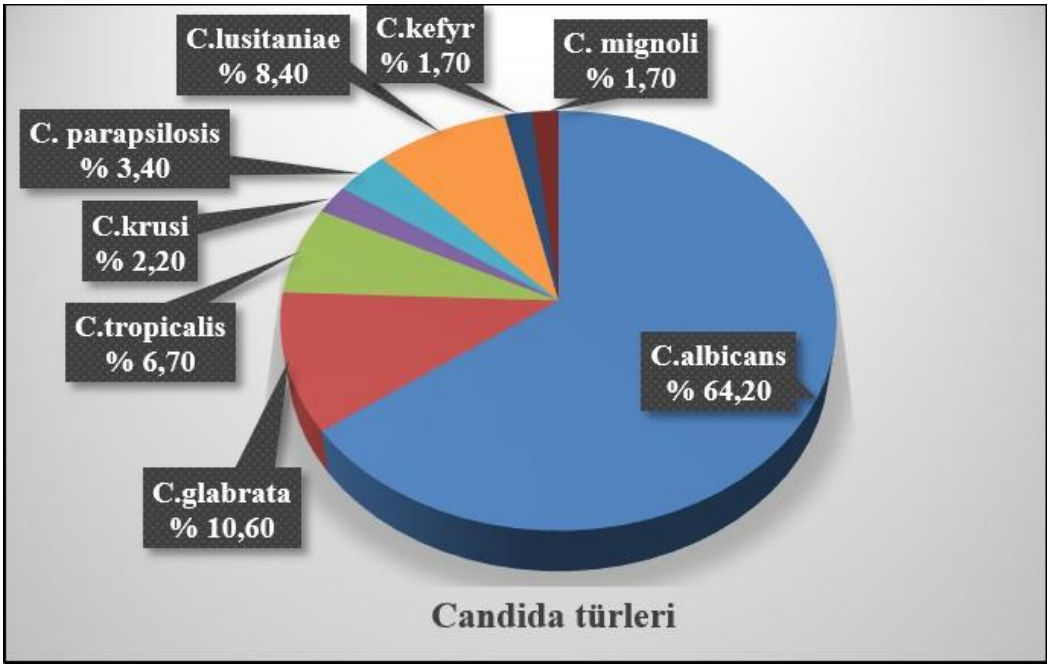
Shigella enfeksiyonu aslında tahmin edilenin iki katı olabilir, çünkü ortamdaki asidik koşullara duyarlıdır veya Escherichia ve Proteus Enterobacter türleri gibi ortak yaşayan mikrobiyal koloniler tarafından inhibe edilir. Bu yüzdeler, araştırmacılar (Abd Al Wahid and Abd Al-Abbas 2019) Kerbela'da kaydettiği sonuçlara kıyasla düşüktü ve toplam (648) diyare vakasından S Typhimurium izolatlarının yüzdesinin (%12,7) ve Shigella türleri izolatlarının %8,6'sıdır. (Abbas *et al.* 2017) tarafından elde edilen yüzdelerden daha yüksek iken, Bağdat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, toplam 1399 diyare vakasının (%1,39) ve 31 Shigella izolatı (%2,21) ile 19 salmonella izolatı saptanmıştır. (Hamze *et al.* 2016) tarafından Trablus-Lübnan Üniversitesi'nde yapılan bir diğer çalışmada izolasyon oranının mevcut çalışmadakinden daha fazla olduğu (172'den 64'ü, %37,2) belirlenmiştir. Salmonella türleri ve Shigella türleri izolat yüzdesi 172 üzerinden 30 ve (%17,5) idi. Bu farkın nedeni kirlilik yüzdesindeki artış, coğrafi alan ve kültürel sağlık bilinci olabilir. Sonuçlar, salmonella için pozitif bir yüzde (%6,8) ile çalışmaya benzer iken, Qi *et al.* 2016) tarafından gerçekleşen başka bir araştırmada ise Salmonella için pozitif izolatların (%8,3) ve Shigella için pozitif olan vakaların (%4,4) benzer oranları gösterilmiştir.

Sonuçlar, C. albicans'ın (115) örnekle en yaygın olduğunu ve CaC agar besiyerinde (%64,24) teşhis edildiğini gösterirken, *C. glabrata, C.lusitaniae, Ctropicalis* ve *C.*

parapsilosis sırasıyla (%8,4), (%6,7), (%5,6), (%3,5) idi. C. krusei, C. kefyr ve C. megnoli, Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de gösterildiği gibi (%1,7) diğer izolatlardan daha az yaygındı. Bağırsak kandida türlerinin bu yüzdeleri, Tıp Bilimleri Üniversitesi'nde (Şiraz, İran) (Hamzavi *et al.* 2019) elde edilen yüzdelerden biraz daha düşüktü. *C. albicans* yüzdesinin (%72) hastalarda en sık görülen kandida türlerinden biri olup, bunu *C. krusei, C. kefyr, C. glabrata* ve *C. parapsilosis* izlediği ifade edilebilir.

Çizelge 4.2 İzolatların besiyeri üzerindeki görünümüne göre sayıları ve pediatrik hastaların diyare örneklerinden izole edilen kandida türlerinin yüzdesi

NUMUNELER	GÖRÜNÜME GÖRE SAYI	YÜZDE (%)
C.albicans	115	64,2
C.glabrata	19	10,6
C.tropicalis	12	6,7
C.krusi	4	2,2
C. parapsilosis	6	3,4
C.lusitaniae	15	8,4
C.kefyr	3	1,7
C. mignoli	3	1,7

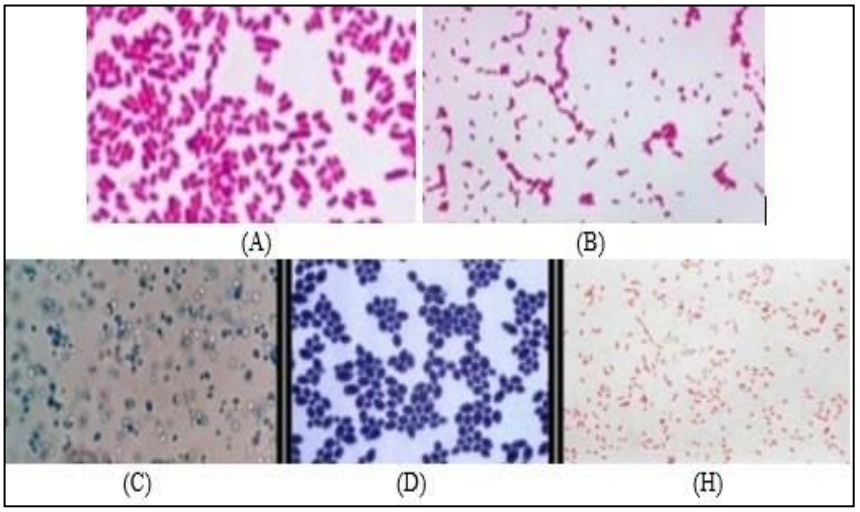


Şekil 4.2 Çocuklarda ishal vakalarında kandida türlerini ve yüzdelerini gösteren diyagram

Mevcut izole kandidiyazis çalışmasının sonuçları, güneydoğu Nijerya'daki Nosuka Üniversitesi'ndeki araştırmacılarınkinden (Ezeonu *et al.* 2017) daha fazla iken, bunların %58,9'unun bağırsak kandidiyazisi ile enfekte olduğu, çocukların sadece %14,3'ünün enfeksiyon olmadığı görülmüştür. İshal ve Kandidiyaz; çalışmadan sonraki üç hafta içinde antibiyotik alan 208 katılımcı arasında, yakın zamanda antibiyotik kullanımı öyküsü olmayanlara (%20,8) kıyasla kandidiyazda %42,3 oranında gelişim not edilmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmanın sonuçları (Forbes *et al.* 2001) tarafından elde edilen sonuçtan daha fazladır; 314 dışkı örneği arasında, (1-12) yaş arası çocuklar için ishal vakalarında ishal yüzdesi (%46,5) idi, buna (%58,9) bağırsak kandidiyazisi ile enfekte olanlar arasında, *C. albicans* prevalansı (%59), *C. krusei* prevalansı (%60) olarak dahil edilebilir. İshal olmayan çocukların sadece (%14,3)'ünde intestinal kandidiyazis varken, intestinal kandidiyazın varlığı, ishal, yaş ($P < 0,05$) ve antibiyotik kullanımı arasında güçlü ilişkilere bağlı gözlenebilir.

4.2 İzole Numunelerin Doğrudan Mikroskobik Teşhisi

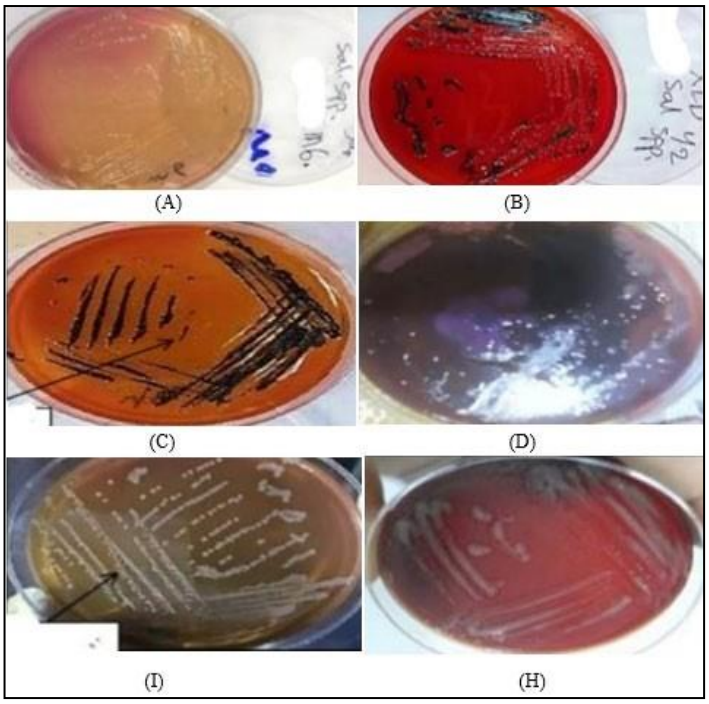
Bileşik ışık mikroskobunun yağ merceği altında gram ile boyanan bakteri kolonilerinin tüm izolatları, Şekil 4.3'de gösterildiği gibi dolu veya dolu olmayan ve açık pembe sporofit oluşturmayan kısa çubuk veya çubuk hücre şeklinde Gram negatif hücrelerde incelenmiş ve Candida izolatları gram pozitif, oval hücreler şeklinde mor-mavimsi boya ve laktofenol boya, (40X) büyütme altında mavili pamuk ve bileşik ışık mikroskobu için 100X yağlı göz merceği ile izole edilmiştir.



Şekil 4.3 Salmonella, Shigella ve Candida'nın (A) Salmonella (B) Shigella (C) *E.coli* (D) Candida türleri (H) Fotomikroskopu altında gram boyalı izolatları laktofenol mavisi pamuk boya ile boyanmıştır

4.2.1 Salmonella kolonileri

Şekil 4.4'de bu çalışmada kullanılan tüm koloniler belirtilmiştir

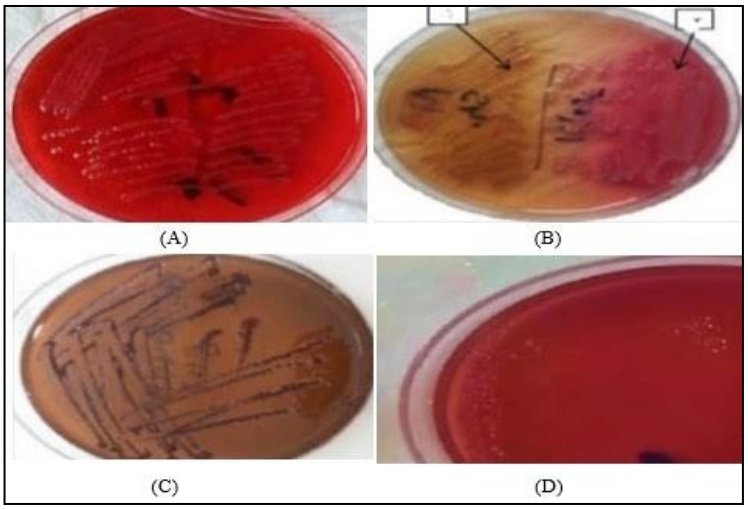


Şekil 4.4 (A) (2-3) mm çapında renksiz yarı dışbükey, MacConkey besiyerinde düşük viskoziteli, düzenli kenarlı şeffaf Salmonella kolonileri (B) XLD üzerindeki

Salmonella kolonileri (C) Merkezi olan veya olmayan ve Siyah ve XLD besiyeri ve SS agar üzerinde Salmone beyazı şeffaf koloniler. (D) EMB ortamında, soluk ila pembemsi koloniler ortaya çıkmıştır. (H) Hematopoietik besiyerinde liziz oluşturmayan (Gama tipi) Salmonella kolonileri belirmiştir

4.2.2 Shigella kolonileri

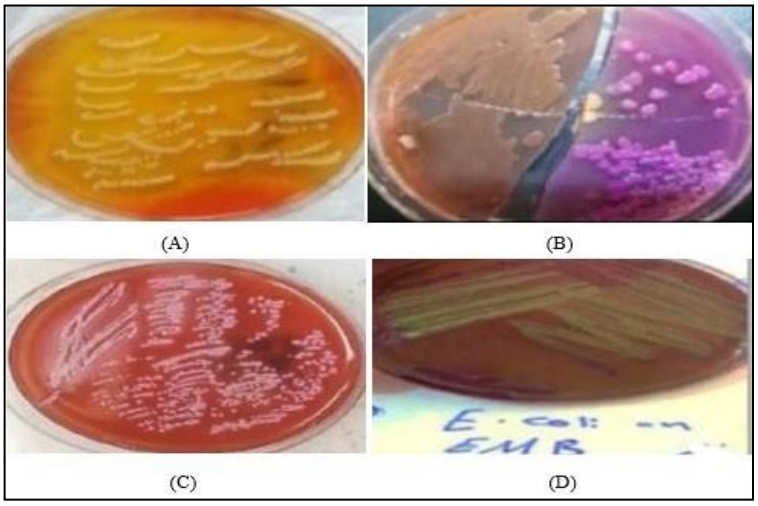
Şekil 4.5'de bu çalışmada kullanılan tüm koloniler belirtilmiştir



Şekil 4.5 (A) XLD ortamında hidrojen sülfit üretimi olmayan Shigella pembesi koloniler, (B,1) Shigella kolonileri laktoz için fermente edilmemiş ve MaC ortamında sarımsı beyazdır. (B, 2) MaC ortamında *E.coli* kolonileri (C) Shigella kolonileri EMB ortamında beyaz ila pembe-mor koloniler üredi (D) SSA ortamında yarı saydam ila beyaz Shigella kolonileri üremiştir

4.2.3 *E.coli* kolonileri

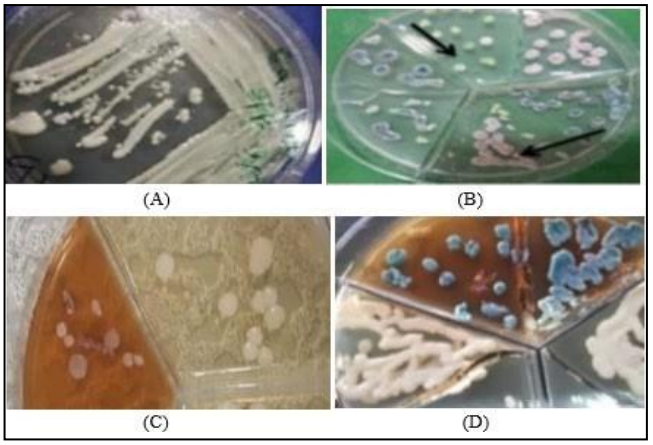
Şekil 4.6'da bu çalışmada kullanılan tüm koloniler belirtilmiştir.



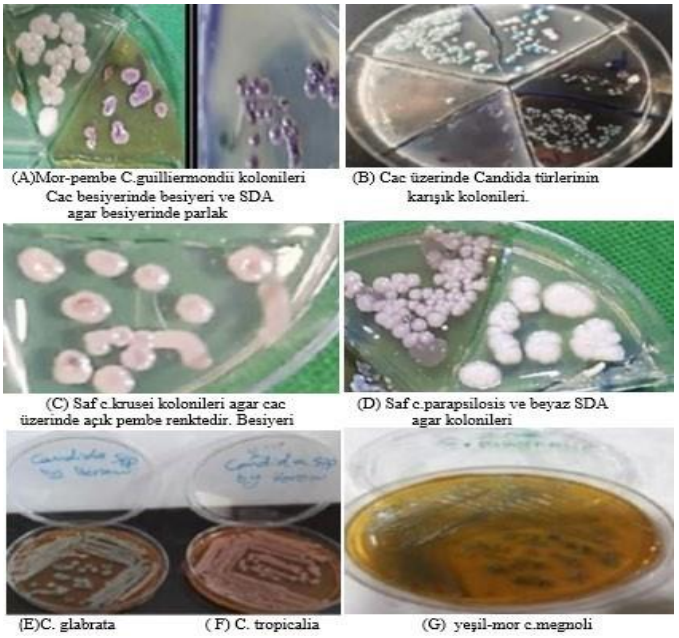
Şekil 4.6 (A) XLD besiyerinde dışbükey beyaz sarı *E.coli* kolonileri (B) Laktozu fermente eden *E.coli* kolonileri MacConkey besiyerinde pembedir (C) Laktozla fermente edilmiş *E.coli* kolonileri SSA besiyerinde açık pembe renkte (D)) EMB ortamında metalik yeşil parlaklığa sahip E.coli kolonileri

4.2.4 İntestinal candida türleri izolatları izolatlar

Şekil 4.7 ve 4.8'de izolatların renk tanımlaması (Jain *et al.* 2012) isimli bir araştırmaya dayanmaktadır.



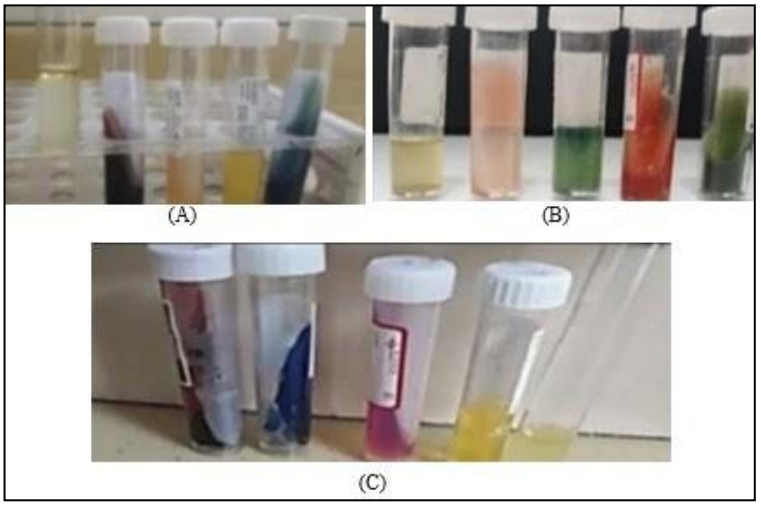
Şekil 4.7 (A) 48 saat inkübasyondan sonra SDA agar besiyerinde beyaz, parlak, dışbükey zikzak kenarlı *C. albicans* kolonileri (B) *C. albicans* izolatları için belirgin parlak yeşil renkli koloniler ve *C. glabrata* için etli pembe koloniler, CaC agar besiyerinde *C. tropikalis* kolonileri mavimsi yeşil, *C. Krusei* (soluk pembe) (C) SDA besiyerinde saf *C. glabrata* yumurtalık kolonileri ve CaC agar besiyerinde pembe koloniler (D) C kolonileri. *C.tropicalis*, CaC'de mavi, SDA'da beyazdır



Şekil 4.8 CaC agar ortamı üzerinde 30°c inkübasyon sıcaklığında (48-72) saatte büyüyen candida türleri kolonileri

4.3 Biyokimyasal Testler

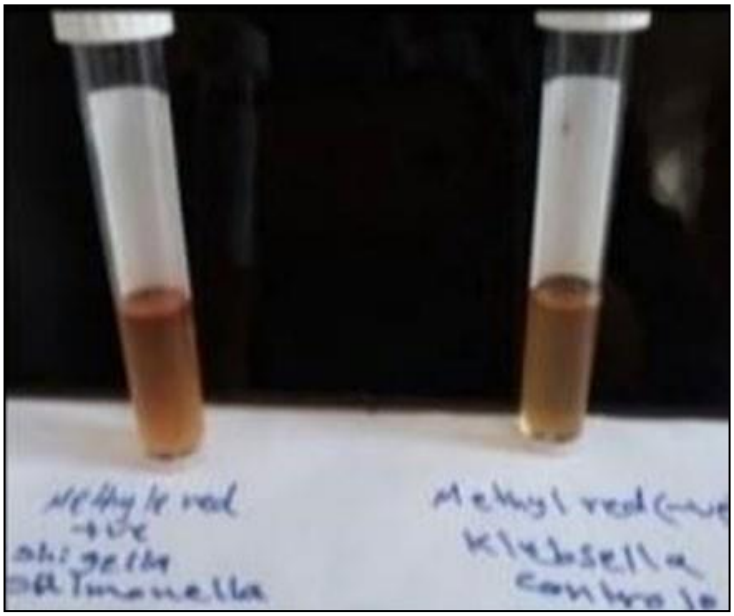
Şekil 4.9'da biyokimyasal test sonuçları görülmektedir



Şekil 4.9 (A) Biyokimya testlerinin sonuçları: Salmonella izolatı için sırasıyla sağdan sola, sitrat, üreaz, motilite, KIA ve indol (B) Test sonuçları: Sağdan sola sitrat, KIA, indol, motilite ve üreaz, izole Shigella (C) Test sonuçları: Sitrat, KIA ve Üreaz Prote us bakterisi

4.3.1 Metil kırmızısı ve voges proskauer

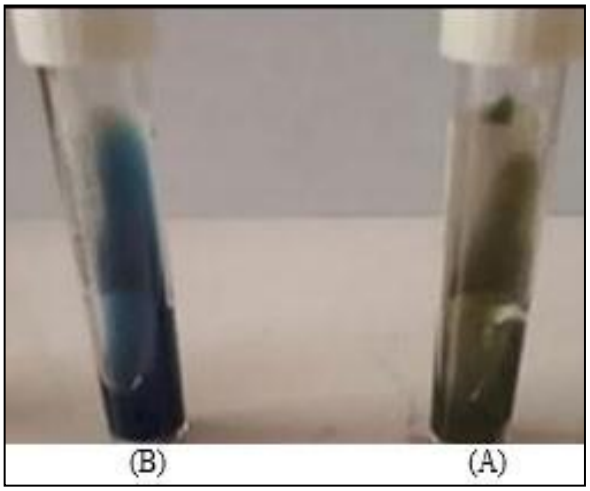
Metil Kırmızısı testinin sonucu pozitif çıkmış olup, Salmonella ve Shigella izolatları için kırmızı bir tabaka ile sonuçlanmıştır. VogesProskauer testi içinse negatif, Barrett reaktifleri A ve B'nin Fermentasyondan asetoin üretmemesi için Şekil 4.10'da eklendikten sonra soluk kahverengi olmuştur



Şekil 4.1037°C'de 24 saat inkübasyondan sonra ishal vakalarından izole edilen patojenik bakteri izolatları için kırmızı metilasyon testinin sonuçları

4.3.2 Sitrat kullanım testi

Salmonella, Klebsiella ve Enterobacter bakterilerinin izolatları için pozitif bir sonuç ortaya çıkmış olup, büyümeye genellikle yeşilden maviye bir renk değişimi eşlik etmiştir. Salmonella kültürlerinin çoğu sitrat pozitiftir. Shigella ve Escherichia coli izolatlarının negatif sonucu, Şekil 4.11 ve Çizelge 4.3'de gösterildiği gibi üreme olmaması veya çok az üreme ve renk değişikliği olmamasıdır.



Şekil 4.11İshal vakalarından izole edilen bakteriler için sitrat testi sonuçları (A) Shigella. (B) Salmonella

Çizelge 4.3 Pozitif (+) ve negatif (-) ve farklı D, bazik K, asit A

BAKTERİ TİPLERİ	Gram boyama	Oksidaz testi	Katalaz testi	KLEGLER				Üreaz	Motilite testi	IMVC TESTLERİ			
				H2S üretimi	CO2 üretimi	Slant	Butt			Indol retimi	Metilkırmızısı	Voges-Proskauer	Sitrat testi
Salmonella	ve	-ve	+ve	+ve	+ve	K	A	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve
Shigella	-ve	-ve	+ve	-ve	-ve	K	A	-ve	-ve	D	+ve	-ve	-ve
E. Coli	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve	A	A	-ve	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
Proteus	-ve	-ve	+ve	+ve	+ve	K	A	+ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve
Klebsiella	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve	A	A	+ve	-ve	-ve	+ve	-ve	-ve
Psedomonas	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	K	K	+ve	+ve	-ve	-ve	+ve	+ve
Citrobacter	-ve	-ve	+ve	D	+ve	D	A	D	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve
Enterofecalis	-ve	-ve	+ve	+ve	+ve	A	A	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve

4.3.3 RapID ON ile tanı

Reaktifler, 24 saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra ve 37°C inkübasyon sıcaklığında ilave edilmiş olup, ortaya çıkan 6 haneli sayı laboratuvar bilgisayarında test uygulamasına girilmiştir.

4.4 Enfeksiyonun Dağılımı

4.4.1 İshal ile ilişkili patolojik faktörlerin prevalansı ile cinsiyet arasındaki ilişki

Mevcut çalışmanın sonuçları, ishalli erkek sayısının (113) olduğu ve kadınlarda (87) olduğunu göstermektedir. Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi ishal vakalarının oranının erkeklerde (%63,5 oranında) kadınlara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Sonuçlar ayrıca bağırsak kandidiyazisi ile enfekte olan erkek sayısının kadın sayısından biraz daha fazla olduğunu, erkeklerde enfeksiyon sayısının 104 (%52) ve kadınlarda enfeksiyon sayısının 75 (%37,5) olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni, erkeklerin evin dışında daha özgür olmalarına ve sokak satıcılarından yiyecek almalarına ve böylece enfeksiyona karşı daha savunmasız olmalarına izin veren farklı sosyal geleneklere bağlanabilir. Erkekleri daha duyarlı hale getiren akut diyare ile ilgili olarak kadınlar ve erkekler arasında patofizyolojik farklılıklar olabileceğine dair biyolojik bir hipotez mevcuttur (Siziya *et al.* 2013). Farklı teoriler, cinsiyete göre farklı hipotezler öne sürmektedir. Örneğin daha büyük erkek çocuklara evden işe veya işten eve ebeveynleri ile gitme konusunda daha fazla özgürlük tanınarak onları orantısız şekilde bulaşıcı patojenlere maruz bırakabilir. Ancak, (Hamzavi *et al.* 2019) yaş ve cinsiyet ile anlamlı bir ilişki olmadığını ortaya koymuştur.

Çizelge 4.4 Hastaların cinsiyetine göre diyare vakalarında patolojik faktörlerin yüzdesi

CİNSİYET	İSHAL VAKALARI		PATOLOJİK FAKTÖRLER							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Erkek	113	%65,5	1	%0,5	8	%4	56	%28	104	%52
Kadın	87	%43,5	0	%0	4	%2	47	%23,5	75	%37,5
Toplam	200	%100	1	%0,5	12	%6	103	%51,5	179	%89,5
P-değeri					0,037		0,055		0,045	
Ki-kare					0,537		0,392		1,777	

4.4.2 İshal ile ilişkili patolojik faktörlerin prevalansı ile yaş grupları arasındaki ilişki

Sonuçlar, salmonella ishaline neden olan salmonella enfeksiyonlarının büyük bir kısmının (11-14) yaş ve 6 yaş altı yaş gruplarında %2,5 oranında olduğunu, bunu 7-10 yaş arasındaki çocukların takip ettiğini göstermektedir. Çizelge 4.5 'teki gibi Shigella ile tek enfeksiyon (11-14) yaş grubunda görülmektedir. Araştırmacıların belirttiğine göre (Schulte *et al.* 2015), en çok bağırsak Candida enfeksiyonu sonucu ishal vakalarının bir yıldan küçük yaşlarda veya yeni doğanlarda %45,5 oranında meydana geldiği belirtilirken, sonuçlar, elde edilen yüzdelerle (Smith 2007), en yüksek insidansın 7-12 yaş arası çocuklarda görüldüğünü bildiren yüzdelerle tutarsızdır.

(11-14) yaş grubu için Salmonella ve Shigella enfeksiyonunun kontamine yiyecek ve içecekleri tüketirken sık sık kontaminasyona maruz kalmasından kaynaklanabileceği gibi su ve kontamine yiyeceklere maruz kalan ve mülteci kamplarındaki çalışma örneklerindeki çocukların sağlıksız koşullardaki yaşam durumlarından da kaynaklanabilir. Ayrıca, mevcut çalışmanın verilerinden, çoğu enfeksiyonun fırsatçı bağırsak bakterilerinden kaynaklandığı not edilmiştir. *E.coli*, Klebsiella, Enterobacter, vb. ishal vakalarının çoğu, bağırsak Candida enfeksiyonu sonucu bir yaşından küçük yaşlarda meydana gelmekte ve esas olarak doğumdan sonraki ilk altı ayda ve beş yaşından sonra çocukları etkilemektedir. Yapılan bir araştırmaya göre (Radlovi *et al.* 2015), bebeklerin, özellikle yapay beslenme ile kirliliğe ve hastalığa maruz kalan ve antibiyotik tedavisi alan bebeklerin bağışıklığının zayıf olması nedeniyle, bu yaş gruplarında diğer hastalıkların yanı sıra bağırsak kandidasının yayılmasının artmasına yardımcı olur.

Çizelge 4.5 İshali olan hastaların yaş gruplarının dağılımı

YAŞ KATEGORİLERİ	**İSHAL VAKALARI**		**PATOLOJİK FAKTÖRLER**							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<1 yıl	100	%50	0	%0	0	%0	49	%24,5	91	%45,5
6-2 yıl	60	%30	0	%0	5	%2,5	36	%18	51	%25,5

10-7 yıl	28	%14	0	%0	2	%1	15	%7,5	26	%13
14-11 yıl	12	%6	1	%0,5	5	%2,5	3	%1,5	11	%5,7
Toplam	200	%100	1	%0,5	12	%6	103	%51,5	179	%89,5
P-değeri					0,051		0,042		0,047	
Ki-kare					34,093		5,408		1,928	

4.4.3 İshal ile ilişkili patojenlerin prevalansı ile beslenme şekli arasındaki ilişki

Mevcut çalışma, (0,02 ≤ P-Değeri) ve salmonella enfeksiyonları için Ki Kare (8,2575) değeri ile emzirilen ve&veya süt tüketen çocuklarda ishal prevalansı %6,5 iken, mama formunda anne sütü alan çocuklarda ishal prevalansının %19,5 olduğunu göstermiştir. Evde yemek yiyenler arasında ishal görülme sıklığı %30 iken, fast food yeme sonucu ishal olan kişilerin sayısı %15 idi. İshali olan pediatrik hastalarda emzirmeye bağlı malnütrisyonun yüksek prevalansı Çizelge 4.6'daki gibi (6,5) idi.

Bağırsaklar ve yumurtalıklarının aşırı büyümesi sonucu ishal bazen bireyin beslenme durumuna değil de bağırsak mikrobiyal dengesini bozan faktörlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Beşinci yaşın altındaki çocuklar genellikle yetersiz beslenmeden muzdariptir. Bu durum ayrıca, mikrobesin ve/veya vitamin eksikliği, beslenme eksikliği ve immün yetmezlik, yüksek mukozal geçirgenlik, malabsorpsiyon dahil (Afzalpurkar *et al.* 1992) ve diğer diyare nedenleri olan diyet glüten toleransı ve ilaca bağlı enteropati kaybını teşvik edebilecek çevresel faktörlerle ilgili olabilir (Rubio-Tapia and Murray 2019).

Çocukların yetersiz beslenmesi, bodurluk, vücut zayıflığı ve düşük kilo, 5 yaşın altındaki çocuklarda ishalin ana riskleri arasındadır. Düşük gelirli ülkelerde, düşük kilolu doğmuş olsun ya da olmasın, birçok çocuğun yaşlandıkça küresel yaşam eğrilerinden kademeli olarak sapma eğiliminde olmasının birçok başka nedeni vardır. Çocukların daha sonra bulaşıcı hastalık ve ishal ataklarına maruz kalmasına neden olan fiziksel büyüme, gıda kaynaklarının kanalizasyon suyu, kanalizasyon boruları ve tuvaletlerden ötürü kirlenmesinden kaynaklanabilir (Rajbhandari *et al*. 2020).

Çizelge 4.6 Besin kaynağı ile diyare prevalansı arasındaki ilişki

BESLENME TİPİ	İSHAL VAKALARI		PATOLOJİK FAKTÖRLER							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Emzirme	13	%6,5	0	%0	2	%1	3	%1,5	12	%6
Emzirme	39	%19,5	0	%0	0	%0	20	%10	28	%14
Karışık beslenme	58	%29	0	%0	0	%0	45	%22,5	54	%27
Restoranlar	60	%30	1	%0,5	5	%2,5	10	%5	56	%28
Evde yemek	30	%15	0	%0	5	%2,5	25	%12,5	29	%14,5
Toplam	200	%100	1	%0,5	1	%6	103	%51,5	179	%89,5
P-değeri					0,007		0,036		0,042	
Ki-kare					14,853		61,325		16,497	

4.4.4 İshal ile ilişkili patojenik mikropların prevalansı ile yılın mevsimleri arasındaki ilişki

Mevcut çalışma, ishale neden olan en yüksek salmonella bakterisi enfeksiyonunun (%3) yaz aylarında olduğunu göstermiştir, öyle ki Shigella enfeksiyonu ise Çizelge 4.7 'de gösterildiği gibi kış başlangıcında ortalama sıcaklığın 12°C olduğu kış aylarında toplanan örneklerden izole edilmiştir.

Mevcut çalışmanın sonuçları, %17 ve %14'lük ılımlı hava ile karakterize edilen mevsimlerle karşılaştırıldığında en yüksek kandida enfeksiyonu oranlarının, toplam enfeksiyon sayısının sırasıyla %27 ve %31'ini oluşturan yılın en soğuk ve en sıcak mevsimlerinde gözlendiğini göstermektedir. Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi yılın sıcak ve soğuk mevsimleri arasında candida enfeksiyonu açısından önemli bir fark yoktur.

Çizelge 4.7 Mevsimlere göre patojenlerin oranı

MEVSİMLER	SAYINUMUNELER	PATOLOJİK FAKTÖRLER							
		Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kış 2020 -2021	60	1	%0,5	2	%1	47	%23,5	55	%27,5
İlkbahar 2021	40	0	%0	0	%0	6	%3	34	%17
Yaz 2021	70	0	%0	6	%3	31	%15,5	62	%31
Sonbahar 2021	30	0	%0	4	%2	19	%9,5	28	%14
Toplam	200	1	%0,5	12	%6	103	%51,5	179	%89,5

4.4.5 İshale neden olan patojenlerin prevalansının annenin eğitim düzeyi ile ilişkisi

Mevcut çalışma, ilköğretim yeterliliği olan eğitimsiz annelerin çocuklarında ishal vakalarının eğitimli annelerin çocuklarına nazaran çok daha yüksek olduğunu (%81,5), öyle ki eğitimsiz annelerin çocuklarında bağırsak kandida enfeksiyonu oranı %77,5 iken, Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi daha eğitimli nitelikli kişilerin çocuklarında kaydedilen kandida enfeksiyonu oranının çok daha düşük (%12) olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çalışma örneklerindeki çocukların çoğunun anne sütü almadığı, yaşamlarının ilk yılında gözlenen kötü sağlık koşullarının ve yaşamın ilk altı ayında Gram negatif bakterilere karşı bağışıklığın azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8 Annenin eğitim düzeyine göre enfekte hastaların dağılımı

ANNENİN MESLEĞİ	İSHAL VAKALARI		PATOLOJİK FAKTÖRLER							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Bilgisizlik	163	%81,5	1	%0,5	11	%5,5	90	%45	155	%77,5
Eğitimli	37	%18,5	0	%0	1	%0,5	13	%6,5	24	%12
Toplam	200	%100	1	%0,5	12	%6	103	%51,5	179	%89,5

4.4.6 İshal ile ilişkili patojenlerin yaygınlığı ile ikamet edilen yer arasındaki ilişki

Mevcut çalışmanın sonuçları göstermiştir ki ishal vakaları kentte (%73,5) kırsal kesimden (%26,5) çok daha yüksektir. Öyle ki Salmonella enfeksiyonları kırsal kesimde (%5) şehre göre (%1) daha yüksek iken, Chi değerine karşı (<0,02 P-Değeri); Sequre (4,6314) değerine sahip olduğu Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Bağırsak patojenlerinin yayılması yaşa bağlıdır, ancak aynı zamanda çocuğun gelişim ortamına da bağlıdır. Bunun nedeni, çok sayıda yerinden edilmiş mülteci kampının birçok yerde bulunması, bu alanlarda tüm sağlık koşullarının mevcut olmaması, sağlıklı suyun olmaması, ulaşım araçları, yemeklerin nasıl hazırlanacağı ve kişisel hijyenin nasıl olacağı hususunda birçok belirsizliğin söz konusu olması sayılabilir. Ayrıca bu numunelerde çocukların sık sık toza maruz kalmaları ve birbirleriyle karışmaları da görülür. Bu durumu ispatlar bir çalışma,

ishalli hastalıkların sağlık hizmetlerine, güvenli içme suyuna ve sanitasyona erişimin zayıf olduğu yerleri ve düşük gelirli ve/veya marjinal nüfusları orantısız bir şekilde etkilediğini göstermiştir (Radlovi *et al.* 2015).

Çizelge 4.9 Enfekte hastaların yerleşim yerine göre dağılımı

YAŞAMSAL	İSHAL VAKALARI		PATOLOJİK FAKTÖRLER							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Şehir	147	%73,5	1	%0,5	2	%1	61	%30,5	134	%67
Ülke	53	%26,5	0	%0	10	%5	42	%21	45	%22,5
P-değeri					0,1582		0,2095		0,0744	
Ki-kare					21,170		22,224		1,620	

4.4.7 İshal ile ilişkili patojenlerin yaygınlığı ile su kaynaklarının kalitesi arasındaki ilişki

Mevcut çalışmanın sonuçları, içme suyu içenler arasında ishal vakalarının prevalansının yüksek olduğunu göstermiştir (%71). Salmonella bakterisi ile en fazla enfeksiyon %3 ile kuyu suyuna bağımlı olan çocuklar arasındadır. Öyle ki Çizelge 4.10 belirtildiğine göre, Shigella enfeksiyonu ortaya çıkmış Candida enfeksiyon vakalarının çoğu sıvı su tüketimine ve maden suyuna bağımlı çocuklarda %9,5 ile daha düşük ishal oranları kaydedilmiştir. Bu alanlardaki sıvılaştırılmış su kalitesindeki kirlilik kaynakları, numune alma döneminde su borularındaki bakım projelerinden veya enfeksiyon durumlarında bağışıklık zayıflığından kaynaklanabilir. Kuyu suyuna bağımlı olan çocuklarda, büyük olasılıkla içme suyunu yeterince alamadıkları için ishal söz konusu olabilir, ancak bu nedensel ilişki henüz net olarak kurulamamıştır. Bu çalışma, su temini sağlayan pompalarda ve sistemlerde az miktarda klor kullanıldığında nakliye ve su arıtma sırasında kontaminasyon olasılığını da göstermiştir. Kullanım suyunun güvenli bir şekilde depolanmaması ve kullanılmaması da önemli bir risk faktörüdür. Kirli sulardaki balık ve deniz ürünlerini yemek de hastalığa katkıda bulunabilir (World Health Organization 2007).

Çizelge 4.10 Enfekte hastaların su tipine göre dağılımı

SU TİPİ	İSHAL VAKALARI		PATOLOJİK FAKTÖRLER							
			Shigella		Salmonella		E. coli		Candida türleri	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Sterilize su	142	%71	1	%0,5	2	%1	66	%33	134	%67
Kuyu suyu	39	%19,5	0	%0	6	%3	32	%16	28	%14
Mineralli su	19	%9,5	0	%0	4	%2	5	%2,5	17	%8,5
Toplam	200	%100	1	%0,5	12	%6	103	%51,5	179	%89,5
P-değeri					0,125		0,139		0,059	
Ki-kare					19,031		20,832		16,587	

4.5 Salmonella ve *Shigella* Bakteri Duyarlılığı Testi

Mevcut çalışmanın sonuçları, Shigella bakterilerinin yanı sıra sefiksim ve Salmonella'nın antibiyotik imipeneme (%100) karşı yüksek bir duyarlılığı olduğunu göstermiştir, ortam Amoksisilin (%41,6) ve Azitromisin (%33,3) olduğunda sefixim ve Ceftrakson'a duyarlılık (%58,3) görece yüksek iken, Furoxone'a (%16,6) göre düşük, ancak yedi antibiyotiğe (Carpencillin, Pencillin, Sefaleksin, Rifampicillin, Clindamycin, Tetracycline, Ampicillin) (%100) ve Trimetoprim'e (%75) karşı yüksek direnç söz konusudur.

Ceftrakson Azone sromypenem ve antibiyotiklere karşı yüksek duyarlılık göstermiş (%100) olduğunda izolatın Spiramycin antibiyotiklere ve Trimetoprim'e orta derecede duyarlı olduğu, Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12'de gösterildiği gibi beta-laktam antagonistlerine ve Sefaleksin, Tetrasiklin Kloramfenikol'e izolatta (%100) direnç gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.11 Salmonella izolatlarının antibiyotiklere duyarlılığı

ANTAGONİSTLER	KOD	DİRENÇ (R)		ORTAM (L)		DUYARLILIK (S)	
		No.	%	No.	%	No.	%
Seftrakson (30 µg)	CRO 30	2	%16,6	3	%25	7	%58,3
Rifampisilin (30 µg)	RF 30	12	%100	-	-	-	-
Azitromisin (15 µg)	AZM 15	3	%25	3	%25	4	%33,3
Sefiksim (5 µg)	CFM 5	2	%16,6	3	%25	7	%58,3
Trimetoprim	TMP 5	9	%75	2	%16,6	1	%8,3

imipenem (10 µg)	IMP 10	-	-	-		12	%100
Pencillin (10 µg)	P 10	12	%100	-	-	-	-
Karpensilin (µg)	CA	12	%100	-	-	-	-
Tetrasiklin (30 µg)	T 30	12	%100	-	-	-	-
Amoksisilin	Amc 30	4	%33,3	3	%25	5	%41,6
Ampisilin (10 µg)	Amp 10	12	%100	-	-	-	-
Kloromfilikol	C10	10	%83,3	2	%16,6	-	-
Furokson furazolidon	Fx 100	6	%50	3	%25	3	%25
Spiramisin (100 µg)	Sp 100	7	%58,3	2	%16,6	3	%25
Klindamisin (2 µg)	DA 2	12	%100	-	-	-	-
Sefaleksin	KF 30	12	%100	-	-	-	-

Çizelge 4.12 Shigella nın antibiyotiklere duyarlılığı

ANTAGONİSTLER	**KOD**	**DİRENÇ (R)**		**ORTAM (L)**		**DUYARLILIK (S)**	
		No.	%	No.	%	No.	%
Seftrakson (30 µg)	CRO 30	-	-	-	-	1	%100
Rifampisilin (30 µg)	RF 30	1	%100	-	-	-	-
Azitromisin (15 µg)	AZM 15	-	-	-	-	1	%100
Sefiksim (5 µg)	CFM 5	-	-	-	-	1	%100
Trimetoprim	TMP 5	-	-	1	%100	-	-
imipenem (10 µg)	IMP 10	-	-	-	-	1	%100
Pencillin (10 µg)	P 10	1	%100	-	-	-	-
Karpensilin (µg)	CA	1	%100	-	-	-	-
Tetrasiklin (30 µg)	T 30	1	%100	-	-	-	-
Rifampisilin (30 µg)	RF 30	1	%100	-	-	-	-
Amoksisilin	Amc 30	1	%100	-	-	-	-
Ampisilin (10 µg)	Amp 10	1	%100	-	-	-	-
Kloromfilikol	C10	1	%100	-	-	-	-
Furokson furazolidon	Fx 100	-	-	1	%100	-	-
Spiramisin (100 µg)	Sp 100	1	%100	-	-	-	-
Klindamisin (2 µg)	DA 2	1	%100	-	-	-	-
(Sefaleksin) Keflex	KF 30	1	%100	-	-	-	-

Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi (NARMS) verileriyle orantılı olarak Salmonella ve Shigella direnci oranı yüksektir. Toplanan Salmonella türleri suşları, antibiyotiklere karşı olan duyarlılıklarında belirgin farklılıklar göstermiştir. Mevcut çalışma ile önceki çalışmalar arasındaki fark, kullanılan farklı teknik araçlardan ve aynı suşlar arasındaki farktan kaynaklanabilir. Bakterilerin antibiyotiğe direnci, bir takım antibiyotiğin yanlış ve uzun süreli kullanımından kaynaklanmaktadır. Bu da antibiyotik direncini artıran genetik mutasyonlara yol açmaktadır.

Çizelge 4.13'de bakterilerin tetrasiklin ve kloramfenikole direnç mekanizması benzerdir, bu sayede bakteriyel ribozomun S30 alt birimi veya S50 alt birimindeki bir değişiklik, tetrasiklin için protein sentezini etkileyen ilaçlara karşı dirence yol açar (Markley *et al.* 2018). Azitromisin ise bakterilerin ribozomundaki S50 alt birimine bağlanarak protein zincirinin uzatılması sürecinde protein sentezi sürecini durdurarak bakterilere dirençli makrolidler grubundadır (Menzel *et al.* 2016.) Rifampisilin direncinin nedeni ise beta-antijenlere dirençli RNA polimeraz enzimindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Laktamlar (carpencillin, Pencillin, ampisilin, Amoxicillin)) bu bakterilerin, içindeki laktam halkasını açarak ve antagonist (CN) arasındaki bağı koparark antikoru yok eden Sınıf A ve Sınıf C β-laktamazlar gibi enzimler üretme yeteneğini gösterir.

Çizelge 4.13 Bakteri izolatlarını tanımlamak için kullanılan teknikler arasındaki fark

İZOLATLAR	**BİYOKİMYASAL-TEST**	**APİ 20E**	**RAPID TM ONE**	**VİTEK 2 COMPCAT YÖNTEM**
Shigella	Shigella türleri	Shigella türleri	Shigella türleri	-
Salmonella Salmonella	Salmonella türleri Salmonella türleri	Salmonella türleri Salmonella türleri	Salmonella türleri Salmonella türleri	S.Typhimurim S.entrica var choleraesuis
E.coli	E.coli	E.coli	E.coli	E.coli
Enterobacter	Enterobacter	Enterobacter	Enterobacter	-
Citrobacter	Citrobacter	Citrobacter	Citrobacter	-
Klebsiella	Klebsiella	K.pnumoni	-	-
Pseudomona	Pseudomonas	Pseudomonas	Pseudomonas	-

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

- Mevcut çalışma, Salmonella'nın neden olduğu farklı karakterdeki ishal vakalarının olduğunu göstermiştir.
- En yüksek diyare insidansı; yaşları (1 ila 15 yıl) arasında değişen erkek çocuklar arasındadır.
- Shigella ve Salmonella prevalansı nispeten düşüktür ve en yüksek salmonella enfeksiyonu insidansı 11-14 yaş grubu içerisinde, diğer yaş gruplarından daha fazladır.
- Salmonella izolatlarının Vitek 2 kompakt sistem immünofenotiplendirmesine göre, saf olmayan Salmonella, izole edilen örneklerin baskın serotipidir.
- Bu çalışmanın sonuçları Salmonella türleri enfeksiyonunun yayıldığı yerlerin daha çok Kerkük şehrinin kırsal kesimlerinde olduğunu göstermektedir.

5.2 Öneriler

- Bakteri düşmanı ve direnç çeşitlerini etkilemek için sürüntü ve periyodik incelemelerin yapılması için daha kapsamlı ve yoğun çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
- Antibiyotiklere alternatif olarak ishale neden olan bakterileri etkileyen bakteriyofajın canlılarda incelenmesi önerilmektedir.
- Saf olmayan Salmonella'ya potansiyel maruziyeti azaltmak için uygun hijyen uygulamaları için kantitatif moleküler teşhis kullanılarak numunelerin daha ileriye dönük çalışması ve yeniden analizi, hastalığı antibiyotiklerle tedavi etmekten daha iyi bir strateji olarak görülmektedir.
- Genel olarak tüm toplumu, hastalığın bulaşma yolları hakkında eğitmek mevcut riskleri azaltma noktasında uzun vadeli ve sürdürükebilir bir araç olarak karşımızda durmaktadır.

KAYNAKLAR

Abbas, K., AL-Wattar, W., Hasan, S., Kasim, H. and Jasim, A. 2017. The incidence of Shigella and Salmonella in the stool of pediatric patients. Iraqi Journal of Public Health, 1: 2521-7267.

Abd Al Wahid, Z., & Abd Al-Abbas, M. J. 2019. Detection of E. Coli Strains Isolated from Water Sources and Diarrhea Cases by Random Amplified Polymorphic DNA in Basrah Governorate. J International Journal of Sciences, 8: 68-83.

Abulreesh, H. H. 2012. Salmonellae in the environment. Department of Biology, Faculty of Applied Science, Umm Al-Qura University, InTech, pp. 19-50, Makkah Saudi Arabia.

Adzitey, F., Agbolosu, A. and Udoka, U. J. 2019. Antibacterial effect of aloe vera gel extract on escherichia coli and salmonella enterica isolated from the gastrointestinal tract of guinea fowls. World, 9: 166-173.

Afzalpurkar, R. G., Schiller, L. R., Little, K. H., Santangelo, W. C. and Fordtran, J. S. 1992. The self-limited nature of chronic idiopathic diarrhea. New England Journal of Medicine, 327: 1849-1852.

Al-Mosawi, R. 2016. Detection of Intestinal Parasitic among People Infection with Diarrhea in Al-Fhood District in Thi-Qar Province, Iraq. Int J Sci Basic Appl Res (IJSBAR), 28: 180-185.

Andino, A. and Hanning, I. 2015. Salmonella enterica: survival, colonization, and virulence differences among serovars. The Scientific World Journal, 2015: 1-16.

Arii, J., Tanabe, Y., Miyake, M., Mukai, T., Matsuzaki, M., Niinomi, N., & Noda, M. 2002. Clinical and pathologic characteristics of nontyphoidal salmonella encephalopathy. Neurology, 58(11): 1641-1645.

Ashkenazi, S., Cleary, T. G., Murray, B. E., Wanger, A., & Pickering, L. K. 1988. Quantitative analysis and partial characterization of cytotoxin production by Salmonella strains. Infection and immunity, 56(12): 3089-3094.

Assefa, A. and Girma, M. 2019. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of Salmonella and Shigella isolates among children aged below five years with diarrhea attending Robe General Hospital and Goba Referral Hospital, South East Ethiopia. Tropical diseases, travel medicine and vaccines, 5: 1-11.

Badr, S. and Abaas B. 2017. Isolation of yeasts from different rivers in Basrah city by Vitek 2 compact system. Asyut University Bull. Environ. Res, 20: 1-9.

Barrow, G. I. and Feltham, R. K. A. 1993. Cown and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria 3rd edition Cambridge University Press, 311.

Berkley, J., Mwangi, I., Griffiths, K., Ahmed, I., Mithwani, S., English, M., & Maitland, K. 2005. Assessment of severe malnutrition among hospitalized children in rural Kenya: comparison of weight for height and mid upper arm circumference. Jama, 294(5): 591-597.

Bitew, A. 2018. Dermatophytosis: prevalence of dermatophytes and non-dermatophyte fungi from patients attending Arsho advanced medical laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. Dermatology research and practice, 2018.

Bopp, C.A. 1999. Escherichia, shigella, and salmonella. Manual of clinical microbiology, 459-474.

Bouvet, P. J. and Jeanjean, S. 1992. Evaluation of two-colored latex kits, the Wellcolex Colour Salmonella Test and the Wellcolex Colour Shigella Test, for serological grouping of Salmonella and Shigella species. Journal of clinical microbiology, 30: 2184-2186.

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. and Jawetz, M. 2007. Adelberg's medical microbiology. Sultan Qaboos Univ. Med. J. 7: 273.

Bugarel, M., Den Bakker, H., Grout, J., Vignaud, M. L., Loneragan, G., Fach, P. and Brisabois, A. 2018. CRISPR-based assay for the molecular identification of highly prevalent Salmonella serotypes. Food Microbiology, 71: 8-16.

Cheesbrough, M. 2005. District laboratory practice in tropical countries, part 2. Cambridge university press, 123-201.

Chida, T., Okamura, N., Ohtani, K., Yoshida, Y., Arakawa, E., & Watanabe, H. 2000. The complete DNA sequence of the O antigen gene region of Plesiomonas shigelloides serotype O17 which is identical to Shigella sonnei form I antigen. Microbiology and immunology, 44(3): 161-172.

CLSI, 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 21th Informational Supplement M100-S21, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA.

Daigle, F. 2008. Typhi genes expressed during infection or involved in pathogenesis. The Journal of Infection in Developing Countries, 2(06): 431-437.

Davis, R.C. 1981. Salmonella sepsis in infancy. American Journal of Diseases of Children, 135: 1096-1099.

Elbashier, A. M., Al-Salem, A. H. and Aliama, A. 2003. Salmonella as a causative organism of various infections in patients with sickle cell disease. Annals of Saudi Medicine.23: 358-362.

Ezeonu, I. M., Ntun, N. W. and Ugwu, K. O. 2017. Intestinal candidiasis and antibiotic usage in children: case study of Nsukka, South Eastern Nigeria. African Health Sciences, 17: 1178-1184.

Forbes, D., Ee, L., Camer-Pesci, P., & Ward, P. B. 2001. Faecal candida and diarrhoea. Archives of disease in childhood, 84(4): 328-331.

Gordon, M. A., Banda, H. T., Gondwe, M., Gordon, S. B., Boeree, M. J., Walsh, A. L. and Molyneux, M. E. 2002. Non-typhoidal salmonella bacteraemia among HIV-infected Malawian adults: high mortality and frequent recrudescence. Aids, 16: 1633-1641.

Guo, Y., Bai, Y., Yang, C., Wang, P. and Gu, L. 2018. Mycotic aneurysm due to Salmonella species: clinical experiences and review of the literature. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 51: e6864.

Hamzavi, S. S., Amanati, A., Badiee, P., Kadivar, M. R., Jafarian, H., Ghasemi, F. and Norouzian Baghani, A. 2019. Changing face of Candida colonization pattern in pediatric patients with hematological malignancy during repeated hospitalizations, results of a prospective observational study (2016–2017) in shiraz, Iran. BMC infectious diseases, 19: 1-9.

Hamze, M., Osman, M., Mallat, H., & Achkar, M. 2016. Antibiotic Susceptibility of Salmonella spp., Shigella spp. and enteropathogenic Escherichia coli strains isolated from diarrheic children in Tripoli, North Lebanon. The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents, 6(2).

Harley, J. P. and Prescott, L. M. 2002. Bacterial morphology and staining. Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Edition, The McGraw-Hill Companies, New York, 31-36.

Hilbi, H., Moss, J. E., Hersh, D., Chen, Y., Arondel, J., Banerjee, S. and Zychlinsky, A. 1998. Shigella-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. Journal of Biological Chemistry, 273: 32895-32900.

Jain, N., Mathur, P., Misra, M. C., Behera, B., Xess, I. and Sharma, S. P. 2012. Rapid identification of yeast isolates from clinical specimens in critically ill trauma ICU patients. Journal of Laboratory Physicians, 4: 030-034.

Jameel, S. K., Shafek, M. A., Abdulmohsen, A. M., Mohamed, N. S., Naji, S. R. and Mohammed, T. T. 2016. The Isolation of Vibrio cholera and Other Enteric Bacteria with Molecular Characterization of Vibrio cholera during the Outbreak of Baghdad/Iraq in 2015. Advances in Microbiology., 6: 699.

Kadhim, H. M. 2020. Review of pathogenicity and virulence determinants in Salmonella. Eurasia Journal of Biosci, 14: 377-381.

Kass, E. H. 1987. A brief perspective on the early history of American infectious disease epidemiology. The Yale Journal of Biology and Medicine, 60: 341.

Kurtz, J. R., Goggins, J. A. and McLachlan, J. B. 2017. Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. Immunology letters, 190: 42-50.

Le Minor, J. M. 1987. Comparative anatomy and significance of the sesamoid bone of the peroneus longus muscle (os peroneum). Journal of anatomy, 151: 85.

Leboffe, M. J. and Pierce, B. E. A 2011. Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory, 4th Edition, Morton Publishing 925W, Kenyon Ave, Englewood, Colorado, 80110.

Livio, S., Strockbine, N. A., Panchalingam, S., Tennant, S. M., Barry, E. M., Marohn, M. E. and Levine, M. M. 2014. Shigella isolates from the global enteric multicenter study inform vaccine development. Clinical Infectious Diseases, 59: 933-941.

Mahon, E. G., Taylor, S. N. and Boyatzis, R. E. 2014. Antecedents of organizational engagement: exploring vision, mood and perceived organizational support with emotional intelligence as a moderator. Frontiers in psychology, 5: 1322.

Markley, J. C., Farber, M. K., Perlman, N. C., & Carusi, D. A. 2018. Neuraxial anesthesia during cesarean delivery for placenta previa with suspected morbidly adherent placenta: a retrospective analysis. Anesthesia & Analgesia, 127(4): 930-938.

Menzel, M., Akbarshahi, H., Bjermer, L. and Uller, L. 2016. Azithromycin induces anti-viral effects in cultured bronchial epithelial cells from COPD patients. Scientific reports, 6: 1-11.

Miliwebsky, E., Schelotto, F., Varela, G., Luz, D., Chinen, I., & Piazza, R. M. 2016. Human diarrheal infections: diagnosis of diarrheagenic Escherichia coli pathotypes. In Escherichia coli in the Americas (pp. 343-369). Springer, Cham.

Morello, J. A., Granato, P. A. and Mizer, H. E. 2004. Laboratory manual and workbook in microbiology. McGraw-Hill Science, Engineering & Mathematics, 96-98.

Nelson, S. J., & Granoff, D. 1982. Salmonella gastroenteritis in the first three months of life: a review of management and complications. Clinical Pediatrics, 21(12): 709-712.

Ngabo, F., Mvundura, M., Gazley, L., Gatera, M., Rugambwa, C., Kayonga, E., & Atherly, D. 2016. The economic burden attributable to a child's inpatient admission for diarrheal disease in Rwanda. PLoS One, 11(2): e0149805.

Ong, S. Y., Bhan Pratap, C., Wan, X., Hou, S., Rahman, A. Y. A., Saito, J. A., & Alam, M. 2013. The Genomic Blueprint of Salmonella enterica subspecies enterica serovar Typhi P-stx-12. Standards in genomic sciences, 7(3): 483-496.

O'Regan, E., Quinn, T., Pagès, J. M., McCusker, M., Piddock, L., & Fanning, S. 2009. Multiple regulatory pathways associated with high-level ciprofloxacin and multidrug resistance in Salmonella enterica serovar enteritidis: involvement of RamA and other global regulators. Antimicrobial agents and chemotherapy, 53(3): 1080-1087.

Pardo, L., Mota, M. I., Giachetto, G., Parada, M., Pírez, C. and Varela, G. 2007. Adenitis mesentérica por Yersinia enterocolitica. Revista Médica del Uruguay. 23: 265-268.

Parsot, C. 2005. Shigella spp. and entero invasive Escherichia coli pathogenicity Factors. FEMS Microbial Lett, 252: 11-18.

Percival, S. L., Chalmers, R. L., Embrey, M., Hunter, P. R., Sellwood, J.and Wyn-Jones, P. 2004. Microbiology of waterborne diseases. Elsevier. Academic Press, San Diego, page 527, California.

Procop, G. and Roberts G. 1998. Laboratory methods in basic mycology. In Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, B. S. D. Forbes and A. E. Weisfeld (eds). Mosby, Inc. S. T. L. M. O. 871–951.

Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor, H. M. N., Ubong, A., Farinazleen, M. G., Cheah, Y. K. and Son, R. 2011. Salmonella: A foodborne pathogen. Int. Food Res. Journal, 18: 465-473.

Qi, X. L.; Wang, H. X.; Bu, S. R.; Xu, X. G.; Wu, X.; and Lin, D. 2016. Incidence rates and clinical Symptoms of Salmonella, Vibrio parah-aemolyticus, and Shigella infections in China, 1998–2013. Journal of Infection in Developing Countries., 10: 127-133.

Radlovi, N., Lekovi, Z., Vuletić, B., Radlovi, V. and Simić, D. 2015. Acute diarrhea in children. Serbsky Arhiv za Silukobno Likarstvo, 143: 755-762.

Rajbhandari, P., Brown, A., Patel, V., Mandelia, Y. and El-Hallak, M. 2020. Prolonged Fever, Diarrhea, Abdominal Pain, and Joint Pain in a 9-Year- Old Boy. PEDIATRICS, 145: e20183607.

Rubio-Tapia, A., & Murray, J. A. 2019. Updated guidelines by the European Society for the Study of Coeliac Disease. United European Gastroenterology Journal, 7(5): 581-582.

Sabbah, M., Di Pierro, P., Cammarota, M., Dell'Olmo, E., Arciello, A., & Porta, R. 2019. Development and properties of new chitosan-based films plasticized with spermidine and/or glycerol. Food hydrocolloids, 87: 245-252.

Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J. 2011. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. Emerg Infect Dis, 17: 7-15.

Schmauder, H.-P. J., Heritage, E. G. V. and Evans, R. A. Killington, 1997. Introductory Microbiology. Cambridge-New York-Melbourne 1996. Cambridge University Press. ISBN 0–521-44977–4. XIV + 234 pp., 57 Figures, 6 Tables. J. Basic Microbiol, 37: 228-228.

Schulte, D. M., Sethi, A., Gangnon, R., Duster, M., Maki, D. G., & Safdar, N. 2015. Risk factors for Candida colonization and Co-colonization with multi-drug resistant organisms at admission. Antimicrobial resistance and infection control, 4(1): 1-9.

Schultz, M. 2008. Theobald Smith. Emerging Infectious Diseases, 14(12): 1940.

Siziya, S., Muula, A. S. and Rudatsikira, E. 2013. Correlates of diarrhoea among children below the age of 5 years in Sudan. African Health Sci, 13: 376–83.

Smith, A. D. 2007. A plate model for Jurassic to recent intraplate vol-canism in the Pacific ocean basin. Plates, Plumes and Planetary Processes. The Geo logical Society of America Special Paper, 430: 471-95.

Smith, P. B., Tomfohrde, K. M., Rhoden, D. L. and Balows, A. 1972. API system: a multitube micromethod for identification of Enterobacteriaceae. Applied microbiology, 24: 449–452.

Spoleti, M. J., Vidal, M. E., & Ruiz, F. 2018. Viral diarrhea in pediatrics. International Journal of Infectious Diseases, 73: 333.

Thauvin-Robinet, C., Lee, J. S., Lopez, E., Herranz-Pérez, V., Shida, T., Franco, B., & Nachury, M. V. 2014. The oral-facial-digital syndrome gene C2CD3 encodes a positive regulator of centriole elongation. Nature genetics, 46(8): 905-911.

Tille, P. 2013. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. London: Elsevier Health Sciences.

Tindall, B. J., Grimont, P. A. and Garrity, G. M. 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 55: 521–524.

World Health Organization, 2020. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions: scientific brief, 09 July 2020 (No. WHO/2019-nCoV/Sci_Brief/Transmission_modes/2020.3). World Health Organization.

World Health Organization. 2007. Immunization, vaccines and biologicals.

Wright, J., Thomas, P., & Serjeant, G. R. 1997. Septicemia caused by Salmonella infection: an overlooked complication of sickle cell disease. The Journal of pediatrics, 130(3): 394-399.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ali Hasan Abdullah ABDULLAH

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Tikrit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2015-2019