

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT İSHALLİ BEŞ YAŞ ALTI ÇOCUKLARDA
DİYAREJENİK *ESCHERICHIA COLI*
İZOLATLARININ SIKLIĞI**

Ayşegül KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman
Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI**

KONYA-2020

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT İSHALLİ BEŞ YAŞ ALTI ÇOCUKLARDA
DİYAREJENİK *ESCHERICHIA COLI*
İZOLATLARININ SIKLIĞI**

Ayşegül KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18202057 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince yetişmemde emekleri geçen, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Duygu FINDIK'a ve hocalarım Sayın Prof. Dr.Uğur ARSLAN'a, Sayın Prof. Dr. Recep KEŞLİ' ye, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Salih MAÇIN'e,

Tez çalışma konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, desteğini esirgemeyen, her konuda hoşgörüsü ve yardımını gördüğüm değerli hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI'na,

Tez çalışmam da yardımcı olan Meral DEMİRAYAK CAMBAZ'a, ve Fikret Okan MÜLAZIMOĞLU'na, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında çalışan tüm mesai arkadaşlarıma,

Hayatımı güzelleştiren, beni motive eden, desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim, tezimin tüm aşamalarında bana eşlik eden sevgili kızlarım Melek ÖZER ve Sevde ÖZER'e

Teşekkür ederim...

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü'ne (BAP 18202057 no'lu proje) katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayşegül KOÇ
KONYA/2020

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1.GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	2
1.2. Genel Özellikler	2
1.2.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	3
1.2.2. Kültür Özellikleri	3
1.2.3. Biyokimyasal Özellikler	4
1.2.4. Antijenik yapı	4
1.2.5. Patojenite ve Virulans Özellikleri	6
1.3. <i>Escherichia coli</i> 'nin Yaptığı Hastalıklar	7
1.3.1. Ekstraintestinal Hastalıklar	7
1.3.2. İntestinal Hastalıklar	8
1.4. Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>	8
1.4.1. Epidemiyoloji	8
1.4.2. Patogenez	9
1.4.3. Klinik	9
1.4.4. Tanı	10
1.4.5. Tedavi ve Korunma.....	10
1.5. Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>	11
1.5.1. Epidemiyoloji	12
1.5.2. Patogenez	12
1.5.3. Klinik	12
1.5.4. Tanı	13
1.5.5. Tedavi ve Korunma	13
1.6. Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i>	14
1.4.1. Epidemiyoloji	14
1.4.2. Patogenez	15
1.4.3. Klinik	16
1.4.4. Tanı	16
1.4.5. Tedavi ve Korunma	17

1.7. Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i> ve Shiga Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>	18
1.7.1. Epidemiyoloji.....	18
1.7.2. Patogenez	19
1.7.3. Klinik	20
1.7.4. Tanı	20
1.7.5. Tedavi ve Korunma.....	21
1.8. Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>	22
1.8.1. Epidemiyoloji.....	22
1.8.2. Patogenez	23
1.8.3. Klinik	24
1.8.4. Tanı	24
1.8.5. Tedavi ve Korunma.....	25
1.9. Diffüz Aderan <i>Escherichia coli</i>	26
1.9.1. Epidemiyoloji.....	27
1.9.2. Patogenez	27
1.9.3. Klinik	28
1.9.4. Tanı	28
1.9.5. Tedavi ve Korunma.....	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1. Kullanılan Kimyasal, Çözelti ve Malzemeler	30
2.2. Kullanılan Cihazlar	31
2.3. Kullanılan Besiyerleri, Ayıraçlar, Solüsyonlar ve Kitler	32
2.3.1. Rotavirüs ve Adenovirüs Kombo Hızlı Test Kaseti kiti	32
2.3.2. Trikróm Boyası	32
2.3.3. Gram Boyası	32
2.3.4. Eozin Metilen Blue Agar	33
2.3.5. Hektoen Enterik Agar	33
2.3.6. Kömürlü Sefoperazon Deoksikolat Agar	34
2.3.7. Hareket Agar	34
2.3.8. İndol Ayırıcı	34
2.3.9. Mueller Hinton Broth.....	35
2.3.10. Simmons Sitrat Agar	36
2.3.11. Triple Sugar Iron Agar	36
2.3.12. Üre Agar	36

2.3.13. Oksidaz Ayırıcı	36
2.3.14. DNA İzolasyon Kiti	36
2.3.15. FastStart Essential DNA Yeşil Master Karışımı.....	36
2.3.16. Primerler	37
2.3.17. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) Tamponu	38
2.3.18. Agaroz Jel	38
2.3.19. Etidyum Bromür	38
2.3.20. DNA Yükleme Boyası	38
2.3.21. Marker	38
2.4. Standart Suşlar	39
2.5. Örneklerin Seçilmesi.....	39
2.6. Gram Boyama	41
2.7. <i>E.coli</i> İzolasyonunda Fenotipik İdentifikasyon.....	41
2.7.1. Hareket Testi	41
2.7.2. İndol Testi	41
2.7.3. Simmons Sitrat Testi	42
2.7.4. Triple Sugar Iron Testi.....	42
2.7.5. Üreaz Testi	42
2.7.6. Oksidaz Testi	42
2.8. Moleküler analizler	43
2.8.1. Gerçek Zamanlı Multipleks PZR	44
2.8.2. Agaroz Jel Elektrophorezi	44
2.9. Sonuçların Değerlendirilmesi	45
2.9.1. İstatistiksel Analiz.....	45
3. BULGULAR	47
4. TARTIŞMA	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
6. KAYNAKLAR	67
7. EKLER.....	84
EK-A. Etik Kurul Onay Formu	84
8.ÖZGEÇMİŞ.....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

A/E	: Yapışma-bozma
Bp	: Baz çifti
Bfp	: Boundle formin pili
°C	: Santigrat derece
Cc	: Santimetreküp
g	: Gram
l	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
N	: Normal
pH	: Hidrojen gücü
U	: Ünite
V	: Volt
aEPEC	: atipik enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
CCDA	: Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar
DAEC	: Diffüz aderan <i>Escherichia coli</i>
DEC	: Diyarejenik <i>Escherichia coli</i>
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EAEC	: Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Merkezi
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	: Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i>
EMB	: Eozin metilen blue
eae	: İntimin
elt	: Enterolabil toksin
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
EspA	: Kısa yüzeyle ilişkili filamanları
est	: Enterostabil toksin
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
FAS	: Floresan aktin boyama
F	: Fimbriya
H	: Kirpik

HE	: Hektoen enterik agar
HÜS	: Hemolitik üremik sendrom
IMVIC	: İndol, metil kırmızısı, voges-proskauer, sitrat test
<i>ipaH</i>	: İnvazif plazmid antijeni H
K	: Kapsül
LT	: Labil toksin
LEE	: Enterosit efüzyon lokusu
MC	: MacConkey agar
NaCl	: Sodyum klorür
NESP	: Ulusal Enterik Sürveyans Programı
O	: Somatik
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
SMAC	: Sorbitol MacConkey agar
ST	: Stabil toksin
STEC	: Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>
Stx	: Shiga toksin
tEPEC	: tipik enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
TSI	: Triple sugar iron agar
WHO	: Dünya sağlık örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Gerçek zamanlı multipleks PZR’da DEC’in virülans genlerinin erime eğrileri	46
Şekil 2. 2. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin multipleks PZR ile saptanan virülans genlerinin jel görüntüsü.....	46
Şekil 3. 1. Hastaların yaş dağılım grafiği.....	47
Şekil 3. 2. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı grafiği	48
Şekil 3. 3. Diyarejenik <i>E.coli</i> vakalarının aylara göre dağılım grafiği	49
Şekil 3. 4. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin aylara göre dağılım grafiği	52

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2. 1. Gerçek zamanlı multipleks PZR için kullanılan hedef gen, primer adı ve dizileri (5' – 3'), konsantrasyon, baz çiftleri.....	37
Tablo 2. 2. Gerçek zamanlı multipleks PZR için ısı döngü ve süre diyagramı.....	44
Tablo 3. 1. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı	47
Tablo 3. 2. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı	48
Tablo 3. 3. Diyarejenik <i>E.coli</i> 'nin mevsimlere ve aylara göre dağılımı	49
Tablo 3. 4. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin aylara göre dağılımı.....	51
Tablo 3. 5. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin yaşlara göre dağılımı	52
Tablo 3. 6. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin cinsiyetlere göre dağılımı	53
Tablo 3. 7. Diyarejenik <i>E.coli</i> patotiplerinin (tekli ve miks olarak) aylara göre dağılımı	54

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Akut ishalli Beş Yaş Altı Çocuklarda Diyarejenik *Escherichia coli* İzolatlarının
Sıklığı

Ayşegül KOÇ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA, 2020

Akut ishalli beş yaş altı çocuklarda, izole edilen *Escherichia coli* tiplerinin tespiti, hastalığın tanısı ve tedavisi açısından önemlidir. Türkiye’de çocuklarda diyarejenik *E. coli* patotiplerinin sıklığı hakkında çalışma ve veri bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı Konya/Türkiye’de, beş yaş altı çocuklarda 2019 yılında, akut ishale yol açan diyarejenik *E. coli* patotiplerinin [enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvazif *E. coli* (EIEC), Shiga toksin üreten *E. coli*, enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC) ve diffüz aderan *E. coli* (DAEC)] sıklığının araştırılmasıdır.

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’na 1 Ocak-31 Aralık 2019 tarihleri arasında gönderilen akut ishalli beş yaş altı çocuklardan alınan 3064 dışkı örneği tarandı. *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* üremeyen, rotavirus ve adenovirus pozitifliği saptanmayan ve parazit görülmeyen 312 çocuğun dışkısında baskın üreyen *E.coli* izolatları çalışmaya alındı. *E. coli* konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 compact otomatize sistemi ile tanımlandı. DNA izolasyonu, ticari bir kitle yapıldı. *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aata*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx₁* ve *stx₂* primerleri gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile çalışıldı. Bir izolatta *eae* genin saptanması aEPEC, *eae* ve *pEAF* genlerinin saptanması tEPEC, *stx₁* ve/veya *stx₂* genlerinin saptanması STEC, *eae*, *stx₁* ve/veya *stx₂* genlerinin saptanması EHEC, *elt* ve/veya *est* genlerinin saptanması ETEC, *ipaH* genin saptanması EIEC, *aata* genin saptanması EAEC ve *daaC* geninin saptanması DAEC olarak tanımlandı. Gerçek zamanlı multipleks PZR, monopleks PZR ve jel elektroforezi ile doğrulandı.

Toplam 312 *E. coli* izolatının 56’sında tek, 254’ünde miks patotip saptanırken iki izolat tiplendirilemedi. 310 örnekte 281 DAEC, 187 EPEC, 159 EAEC, 43 EIEC, 31 EHEC, dört ETEC ve iki STEC saptandı. En sık tespit edilen tekli patotipler DAEC (47) ve EAEC (7) iken miks patotipler DAEC + EPEC + EAEC (108), DAEC + EPEC (58) ve DAEC + EIEC (24) olarak belirlendi.

Konya/Türkiye’de beş yaş altı akut ishalli çocuklarda DAEC’in baskın patotip olduğu ve miksenfeksiyonlar da ise en sık DAEC+EPEC+EAEC birlikteliği saptanmıştır. Bu çalışma Türkiye’de tüm diyarejenik *E.coli* patotiplerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı tek merkezli olmasıdır. Türkiye’de hangi patotiplerin yaygın olduğunun belirlenmesi için çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Akut ishal, diyarejenik *Escherichia coli*, multipleks polimeraz zincir reaksiyon

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The Frequency of Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolates in Children with Acute Diarrhea under Five Years

Ayşegül KOÇ
Department of Medical Microbiology

MASTER THESIS / KONYA-2020

The detection of diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from normal intestinal microbiota is important for the diagnosis and treatment of acute diarrhea. There is no research and data about the frequency of diarrheagenic *E. coli* pathotypes in Turkey. This study aims to detect the frequency of diarrheagenic *E. coli* pathotypes [enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) Shiga toxin-producing *E. coli*, enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) and diffuse adherence *E. coli* (DAEC)] in children with acute diarrhea under five years in Konya/Turkey.

3064 stool samples taken from children with acute diarrhea under the age of five years sent to the Medical Microbiology Laboratory of the Medical Faculty Hospital, Selçuk University between 1 January and 31 December 2019 were scanned. *E. coli* isolates were included in the study that predominantly growing in the feces of 312 children whose *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* were not grow, rotavirus and adenovirus positivity was not detected and no parasites were observed. *E. coli* was defined by conventional methods and Vitek 2 compact automated system. DNA isolation was performed with a commercial kit. The primers of *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aataA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx*₁ and *stx*₂ genes were studied by real-time multiplex PCR method. Detection of *eae* plus *pEAF* genes was accepted typical EPEC (tEPEC), only *eae* atypical EPEC (aEPEC), *stx*₁ and/or *stx*₂ genes STEC, *eae* plus *stx*₁ and/or *stx*₂ genes EHEC, *elt* and/or *est* genes ETEC, *ipaH* gene EIEC, *aataA* gene EAEC and *daaC* gene DAEC. Results were confirmed by monoplex PCR and gel electrophoresis.

Of the 312 *E. coli* isolates, 56 had single pathotype, 254 had mixed pathotypes and two isolates could not be typed. 281 DAEC, 187 EPEC, 159 EAEC, 43 EIEC, 31 EHEC, four ETEC and two STEC were detected in 312 samples. The most frequently detected single pathotypes were DAEC (47) and EAEC (7), while mixed pathotypes were DAEC + EPEC + EAEC (108), DAEC + EPEC (58) and DAEC + EIEC (24) respectively.

DAEC was single and also DAEC plus tEPEC/aEPEC plus EAEC were mixed predominant pathotypes in the diarrheagenic *E. coli* isolates in children with acute diarrhea under five years in Konya/Turkey. This is the first study to investigate all diarrheagenic *E. coli* pathotypes in Turkey. The most important limitation of our study is that single-centered. Multicentre studies are needed to determine which pathotypes are common in Turkey.

Keywords: Acute diarrhea, diarrheagenic *Escherichia coli*, multiplex polymerase chain reaction

1. GİRİŞ

Akut ishal, çocukluk çağında morbidite ve mortalitenin alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık nedeni olup ülkemiz için önemli halk sağlığı sorunudur (Offit ve Clark 2000, Bulut ve ark 2003). Her yıl dünyada, 0-5 yaş arasındaki çocuklarda 525 000 ölümle birlikte 1 700 000 ishali vakası bildirilmektedir (Verma ve ark 2019). Bakteriyel etkenler arasında, diyarejenik *Escherichia coli* (DEC), gelişmekte olan ülkelerde, özellikle beş yaşın altındaki çocuklarda, ishalin ana sebeplerinden biridir (Zhou ve ark 2018).

Diyarejenik *Escherichia coli* (*E. coli*) çocuklarda önemli bir ishal sebebidir (Afset ve ark 2004). DEC izolatlarının birbirinden farklı klinik tablolara yol açan ve bir dizi virülans faktörü taşıyan patojen tipleri mevcuttur. DEC suşları genellikle altı patotip şeklinde sınıflandırılır: enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC), enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) ve diğer Shiga toksin üreten *Escherichia coli*, enteroinvazif *Escherichia coli* (EIEC), enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC), diffüz aderan *Escherichia coli* (DAEC). EPEC suşları, EAF plazmidinin varlığına veya yokluğuna göre tipik EPEC (tEPEC) ve atipik EPEC (aEPEC) suşlarına ayrılır (Souza ve ark 2013, Konaté ve ark 2017).

Dışkı örneklerinde DEC'i tanımlamak için polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testleri geliştirilmiştir. Ayrıca, bakteriler, virüsler ve parazitler dahil olmak üzere birçok ishal oluşturan patojenleri eşzamanlı olarak değerlendirebilen multipleks PZR testleri de geliştirilmiştir (Zhou ve ark 2018).

E.coli'nin bazı tiplerinin akut ishal etiyolojisindeki rolü her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda, başka bir patojen etken saptanmaması halinde izole edilen, patojen *E.coli* patotiplerini normal bağırsak mikrobiyota elemanlarından ayıran virülans faktörlerinin tespiti, hastalığın tanı ve tedavisi açısından önem taşımaktadır.

Ülkemizde ishale neden olan patojen *E.coli*'lerin prevalansı ve önemi konusundaki veriler sınırlı olup, bu suşların tanımlanması epidemiyolojik çalışmalara, hastalığın ve tanı tedavisine önemli katkılar sağlayacaktır. Bu

patojenlerin prevalansı ve epidemiyolojik özellikleri, aynı ülke içinde bile farklı bölgelerde farklılık gösterir. Bu çalışmanın amacı Konya/Türkiye’de, beş yaş altı çocuklarda 2019 yılında, akut ishale yol açan DEC patotiplerinin (EPEC, ETEC, EIEC, STEC, EHEC, EAEC ve DAEC) sıklığının araştırılmasıdır.

1.1. Tarihçe

E. coli ilk kez 1885’de pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodor Bald Escherich tarafından yenidoğanların intestinal mikrobiyotasının gelişimi ile ilgili çalışmaları sırasında dışkıdan izole edilmiştir. Önce *Bacterium coli commune* olarak, daha sonra 1919’da Castellani ve Chalmers tarafından *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır (Barnes ve Gross 1997, Ray 2004, Donnenberg ve ark 2005). 1940’larda ve 1950’lerde bir dizi ishal salgını ile epidemiyolojik olarak ilişkilendirilen *E.coli* patotiplerinden biri olan EPEC suşu tanımlanmıştır (Neter ve ark 1955, Youcong ve ark 2009). Risk grubu yenidoğan, küçük çocuklar ve duyarlı turistler olan ETEC’in tarihi 1956’da Kalküta’da başlamış, 1968’de Sack ve Kalküta’da yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Qadri ve ark 2005). STEC ise ilk kez 1977’de keşfedilmiştir. *E. coli* O157:H7 EHEC grubu içinde bulunan bir serotip olup klinik önemi ilk olarak 1980’li yıllarda ABD’de açıklanmış 1982’de gıda kaynaklı bir patojen olduğu tanımlanmıştır (Lawson 2004, Patrick 2009, Control ve Prevention 2012). Shigella, ilk kez 1897’de EIEC ise yaklaşık 50 yıl sonra keşfedilmiştir (Shiga 1898, Nataro ve Kaper 1998, Lan ve ark 2004). EAEC ise ilk kez 1987’de tanımlanmış ve ishal ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Nataro ve ark 1987). 1984’den sonra intestinal enfeksiyonlara neden olan diffüz adheran *E.coli*’yi potansiyel bağımsız bir kategori olarak tanımlanmıştır (Le Bouguénec ve Servin 2006, Altındış 2010).

1.2. Genel Özellikler

Tıbbi olarak önem taşıyan Gram negatif çomakların en büyük ve en heterojen topluluğu *Enterobacteriaceae* ailesidir. Kırktan fazla cins ve yüzlerce tür ve alttür tanımlanmıştır (Murray ve ark 2015). *Escherichia* cinsi *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerindendir. *Escherichia* cinsi içerisinde yedi tür olup, bunlar: *E. coli*, *E. adecarboxylata*, *E. fergusonii*, *E.hermanii*, *E. vulnaris*, *E. blattae* ve *E. alberti*’dir.

Escherichia coli, Gram negatif, fakültatif anaerob tercihen 37 °C'de üreyebilen, hareketsiz veya hareketli olabilen, spor oluşturmeyen bir çomaktır (Ewers ve ark 2004, Croxen ve ark 2013).

1.2.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

E. coli, çubuk şeklinde olup, boyutları yaklaşık olarak 2-6 µm uzunluğunda ve 0,1-1,5 µm enindedir. Hareketli suşların hareketini peritriş kirpikleri sağlarlar fakat hareketleri yavaştır. Bakteriyolojik boyalarla Gram negatif boyanırlar. Kapsül oluşturabilirken, endospor oluşturmazlar(Bilgehan 2000, Şahin ve Başoğlu 2011).

1.2.2. Kültür Özellikleri

E. coli, agar ve buyyon gibi genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürer. Sıvı kültürlerde (buyyon) hızlı üreyerek bulanıklık oluşturur, tek ya da çiftler halinde görülür (Ewers ve ark 2004). Besiyerlerinde 18-44°C de ürer. Organizmaların sayısını; sıcaklık ve üreme süresi etkiler. pH:5-8 arasında üreyebilirken optimum üreme pH sı 7,2 dir (Bilgehan 2004, Cantekin ve İzgür 2015) .

E. coli, seçici besiyerlerine ekilerek dışkı örneklerinden kolayca izole edilir. *E. coli*, genel besiyerlerinde (nutrient ve kanlı agar gibi) ve selektif ve ayırt edici besiyerlerinde MacConkey (MC) ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar gibi yuvarlak parlak, düzgün kenarlı, 1,2 mm çapında, S tipli koloniler meydana getirir. Laktoz fermentasyonuna bağlı olarak pH'daki değişim, suşları ayırt etmek için kullanılabilir. Bazı *E. coli* suşları, özellikle çoğu EIEC suşları, laktozu fermente etmez, bu yüzden tanımlamada dikkatli olunmalıdır. MC agarda etken laktozu fermente ettiği için kırmızı veya pembe renkli koloniler, EMB agarda laktoz fermentasyonuna göre pembe veya koyu, siyah-yeşil metalik refle görünümünde koloniler oluşturur (Croxen ve ark 2013, Cantekin ve İzgür 2015).

Genelde *E. coli* suşları 2-3 mm çapında S tipi kolonileri agar besiyerlerinde 18 saatte oluştururlar. *E. coli* suşlarının bazıları ise kolonileri mukoid olan M koloni ya da kenarları düzgün olmayan, küçük ve kuru görünümlü R-tipli koloni oluştururlar. Bazı patojenik *E. coli* suşları kanlı agarda kolonileri hafif nemli

görünümünde ve bazı suşları da kanlı agarda beta hemoliz yapma yeteneğindedirler (Bilgehan 2000). MC ve EMB agar gibi besiyerleri indikatör boya ve laktoz katılarak hazırlanır, bu besiyerlerinde laktoz pozitif bakteriler besiyeri içindeki indikatörün rengini açığa çıkararak koyu renkli koloniler oluştururlar (Berkiten 2005).

1.2.3. Biyokimyasal Özellikler

E. coli glikoz ve diğer karbonhidratları kullanarak asit ve gaz oluştururken nişastadan gaz oluşturmazlar. Genelde *E. coli* suşlarını tanımlarken laktoz, asit, gaz ve indol pozitifliği gözlenir (Berkiten 2005, Bilgehan 2009).

Genelde laktozu fermente eden *E. coli* suşları laktozu fermente etmeyen *Salmonella* ve *Shigella* gibi diğer bakterilerinden ayırmaya yarar. Bu sebeple Hektoen Enterik (HE) agar, EMB agar ve MC agar gibi içinde ayıraç bulunan besiyerleri *E. coli* 'yi dışkıda birlikte bulunduğu diğer laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde yardımcı olur (Özsoy ve ark 2001). Laktozu fermente etmeyen, hareketsiz, glikozdan gaz oluşturmayan *E.coli* suşları inaktif suşlar olarak kabul edilir (Bilgehan 2000).

Metil kırmızısının rengini asit oluşturması nedeniyle sarıya çevirir. Asetik asit, laktik asit ve pürivik asit olmak üzere üç asit oluşturur (Şahin ve Başoğlu 2011). Karbon kaynağı olarak asetatı kullanabilir, sitratı kullanmaz. Oksidaz negatif, katalaz pozitif ve lizin dekarboksilaz pozitifdir. Triptofandan indol ve nitrattan nitrit oluşturur. Üreyi parçalamaz. IMVIC testi (+, +, - , -) dir. Triple Sugar Iron (TSI) agarda hem dipte hem yatık kısımda asit ve dipte gaz oluşturur, H₂S oluşturmaz (Bilgehan 2009).

1.2.4. Antijenik yapı

Enterobacteriaceae üyelerinin antijenik yapısı birbirine benzerdir. *E. coli* somatik (O), kirpik (H) , kapsül (K) ve fimbriya (F) antijenlerine sahiptir (Bilgehan 2009). Bu antijenlerin özelliklerine göre gruplara ve tiplere ayrılırlar. Kaufmann serotiplendirme için ilk şemayı geliştirmiştir. Bu serotip şemasına göre *E. coli*'de 180'den fazla O, 56 H ve 80 K antijeni tanımlanmıştır. Somatik antijenleri ortak olan

Salmonella, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* cinsi bakterilerde serolojik tanıda çapraz reaksiyonlar gözlenir. Kapsül antijenleri 100°C de 1-2 saat kaynatılırsa inhibe olur. Örneğin O6: K2: H1: F7 ve O78: H20, O18: K1: H7 vs. H ve F saptanmayan suşlar H-, F- olarak gösterilebilir. Örneğin O157: H- gibi (Bilgehan 2000).

E. coli 'nin alt türlerinin sınıflandırılması, antijenik yapılarının çeşitliliğine dayanır. *E. coli* O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenlerine göre de serovarlara ayrılır (Bilgehan 2000). O antijenleri dış hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit yapıdadır ve ısıya dirençli yüzey antijenidir. Lipopolisakkarit tabakası 3 komponentten oluşur. En dışta O polisakkariti, ortada kor polisakkariti ve en altta lipid A yer almaktadır. Endotoksin aktivitesinden sorumlu olan virulans faktörü lipid A'dır (Murray ve ark 2009). O antijenleri 4 saat %96'lık alkole, 2,5 saat 100°C'ye dayanır. Asitlere dayanıklı iken, formaldehite dayanıksızdır. Antiserumdaki antikorlar Ig M yapısındadır (Töreci 2002, Deborah Chen ve Frankel 2005).

Flagellanın bir parçası olan H antijenleri hareketli suşlarda bulunur. *E. coli* suşlarının geneli hareketsiz veya kısmen hareketlidir. H antijeni eksik olduğu suşlar flajellasını kaybeder ve hareketsizleşir. Her *E.coli* suşunda H antijeni olmadığından H antijenine bağlı serotiplendirme güvenilir değildir. 60'a yakın H antijeni saptanmıştır. *E. coli* O157:H7 serotipi dışında H antijenini saptamak pratikte önemli değildir. H antijenlerinin yapısı proteindir ve aminoasit dizilimlerindeki farklılıklar, çeşitli H antijeni tiplerinin oluşmasına neden olur. Isıya, alkole ve asite duyarlı, formaldehite ise dirençlidir. H antijenlerinin antiserumundaki antikorlar Ig G yapısındadır (Bilgehan 2000, Deborah Chen ve Frankel 2005, Fındık 2008, Yeniiz ve ark 2009).

E. coli 'de K antijenleri polisakkarit yapıda olduğundan ısıya dayanıklıdır. 1-2 saat 100-120 °C de kaynatma sonrası yapısı bozulur (Yeniiz ve ark 2009). K antijenleri A antijeni grup 1 kapsüler polisakkarit, B ve L antijenleri ise grup 2 kapsüler polisakkaritler olarak ayrılmaktadır (Batzing 2002).

E. coli suşlarında L antijeni var ise ısıya duyarlıdır. A antijenine sahip suşların kolonileri opak, mukoid ve M koloni özelliğindedir. Kapsüllü *E. coli* suşlarının polisakkaritleridir. Kaynatılmaya dayanıklıdır ve bazı serogrup tarafından oluşturulur (Töreci 2002). B antijeni ise gastroenterit yapan suşlarda bulunur ve

sıcaklığa duyarlıdır. Çocuklarda epidemik ishallerde etken olan *E. coli* suşlarında B antijeni saptanmıştır (Demir 2001). B antijeni patojenitede rol oynar (Yeniiz ve ark 2009).

Önemli bir virulans faktörü olan F antijenleri bakteri yüzeyinde kısa uzantılar şeklinde bulunur ve dokulara tutunmayı sağlar. F antijeni içeren bakteriler insan ve hayvanların eritrositlerini aglütine etme eğilimindedir. Sıvı besiyerinde üretilen bakteriler fimbriyalarının geliştirirken katı besiyerlerinde tekrarlanan pasajlarla çoğaltılırsa fimbriyalarını kaybedebilir (Demir 2001, Cengiz ve ark 2004).

1.2.5. Patojenite ve Virulans Özellikleri

Enfeksiyöz bir etkenin hastalık oluşturabilme yeteneğine patojenite denir. Mikroorganizmanın hastalık oluşturabilme yeteneğinin derecesine ise virulans denir. *E. coli* normal bağırsak mikrobiyotasında bulunan patojen olmayan bir bakteridir. Diğer mikrobiyota bakterileri ile denge içinde kaldığı sürece hastalık oluşturmaz. Patojenik *E. coli* suşlarının virulans faktörü üretme kapasitesi, onları non patojenik suşlardan ayırt eder. Patojenik *E. coli* 'ler oluşturduğu hastalığın türüne ve sahip olduğu virulans faktörlerine göre sınıflandırılmaktadır (Tunçkanat 1993, Bilgehan 2000, Omerovic ve ark 2012).

E. coli farklı dokuları enfekte edebilmek için çok sayıda virulans faktörüne sahiptir. *E.coli*'nin virülans faktörleri; fimbriyal yapılar (P fimriya, tip1 fimbriya), hücre yüzey hidrofobisitesi, hemolizin, siderofor, adezinler (aerobaktin, enterobaktin), serum direnci, antibakteriyellere direnç, hücre dışına salgılanan toksinler (LPS, hemolizin) gibi farklı yapılardır. ETEC'de kolonizasyon faktör antijenleri (CF), enterolabil toksin (*elt*) ve enterostabil toksin (*est*), EPEC'de *eae*, EAEC'de aggregatif aderens F, EHEC'de *eae*, EIEC'de invazif plazmid antijen, üropatojenlerde P pili, EAEC'de plazmid tarafından kodlanan toksin ve enteroagregatif ısıya dayanıklı toksin, STEC'de hemolizin, *stx*₁ ve *stx*₂ vs (Debeleç ve Coşar 2007, Demir ve ark 2007, Omerovic ve ark 2012).

E. coli 'nin virülans faktörlerinden aderens özelliği, enfeksiyonların çoğunun başlangıcına ve mikroorganizmanın konak hücreye yapışmasını sağlar. *E. coli*'de

bulunan dokulara tutunmayı sağlayan K1 kapsülü, yüzey yapılarından birisidir. İnsan nötrofillerinin ve insan serumunun öldürücü etkisine karşı, K1 kapsülü mikroorganizmaya direnç sağlar, beyin omurilik sıvısında ve kanda mikroorganizmanın canlı kalmasına yardımcı olur (Demir ve ark 2007).

1.3. *Escherichia coli* 'nin Yaptığı Hastalıklar

Escherichia coli insan bağırsak mikrobiyotasında diğer mikrobiyota bakterileri ile dengede olduğu sürece hastalık oluşturmaz (Bilgehan 2000). *E.coli* enfeksiyonlarının çoğu konağın kendi mikrobiyotasında kaynaklanmaktadır ancak dış ortamdan bulaş yoluyla da gelişebilir. *E.coli*'nin enfeksiyon sürecinde bir basamakta mikroorganizmanın giriş kapısındaki doğal engelleri geçerek, konak hücrelerine tutunması ve kolonizasyonudur. Bazı patojenik suşlar gastroenterit, idrar yolu enfeksiyonu ve sepsis/menenjit gibi önemli bulaşıcı hastalıklara neden olur (Nataro ve ark 2006). Patojenik *E. coli* 'ler oluşturduğu hastalığın türüne ve virülans özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. *E. coli* suşları enfekte ettikleri dokulara göre; ekstraintestinal ve intestinal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Omerovic ve ark 2012). Ekstraintestinal hastalıklar idrar yolu enfeksiyonu, septisemi, yenidoğan menenjit, merkezi sinir sistemi ve solunum sistemi enfeksiyonlarını içerir. *E. coli* enfeksiyonlarının en sık görülenleri; üropatojenik idrar yolu enfeksiyonları ve enteropatojenik ishallerdir (Banu A ve ark 2011, Croxen ve ark 2013).

1.3.1. Ekstraintestinal Hastalıklar

Patojenik *E. coli* 'ler bağırsaktan diğer dokulara geçmeleri bağırsakların mekanik veya biyolojik etkileri ile oluşabilmektedir (Omerovic ve ark 2012). İdrar örneklerinde, beyin omirilik sıvısında, kan örneklerinde, herhangi bir *E. coli* 'nin varlığı enfeksiyonun göstergesidir. Ekstraintestinal *E. coli* için çok sayıda virülans faktörü, özellikle K antijeni tanımlanmıştır ve en önemli virülans faktörü hemolizindir (Debeleç ve Coşar 2007, Murray ve ark 2009).

Ekstraintestinal patojenik *E. coli*, insanlarda en yaygın gram negatif bakteriyel etkindir ve tüm yaş gruplarını etkileyen çeşitli klinik hastalıklara neden olur. Özellikle genç sağlıklı kadınlarda idrar yolu enfeksiyonunun en sık ve

yenidoğanlarda menenjitin ikinci en yaygın sebebidir. Ekstraintestinal patojenik *E. coli* enfeksiyonlarına bağlı küresel morbidite ve mortalite oranları önemli oranda artmaktadır. Çoklu ilaca direnç ekstraintestinal enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisi için zorluk teşkil etmektedir (Russo ve Johnson 2003, Mathers ve ark 2015).

1.3.2. İntestinal Hastalıklar

Diyarejenik *Escherichia coli* dünya genelinde endemik ve epidemik ishalin önemli nedenlerindendir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ishale neden olan en az altı farklı *E.coli* patotipi tanımlanmıştır (Forbes ve ark 2007). *E. coli* patotipleri, enfeksiyon mekanizmalarına, virulans faktörlerine, doku tropizmine, enterositle etkileşime, semptomlara ve sendromlara göre sınıflandırılırlar (Kaper ve ark 2004, Croxen ve ark 2013).

DEC'in patotipleri;

1. Enteropatojenik *E. coli*
2. Enterotoksijenik *E. coli*
3. Enteroinvazif *E. coli*
4. Enterohemorajik *E. coli* ve Shiga toksin üreten *E. coli*
5. Enteroagregatif *E. coli*
6. Diffüz aderan *E. coli*

1.4. Enteropatojenik *Escherichia coli*

Enteropatojenik *E. coli*, intestinal epitel hücrelerin yüzeylerinde farklı lezyonlar oluşturmalarına göre patojenleri yapışma ve bozma (A/E) olarak bilinen kolektif bir bakteri grubuna aittir. DEC 'den EPEC, ilk tanımlanan patotiptir (Bray 1945, Neter ve ark 1955, Robins-Browne 1987).

1.4.1. Epidemiyoloji

Enteropatojenik *E. coli* enfeksiyonunun epidemiyolojisi, tanımlandığından bugüne kadar değişmiştir. Başlangıçta, EPEC dünyada çocuk ishalinde daha sık

görülür iken yıllar içinde gelişmekte olan ülkelerde daha çok yaygınlaşmıştır (Nataro ve Kaper 1998). Gelişmekte olan ülkelerde ki çocuklarda, özellikle yenidoğanlarda, hastane kreşlerinde salgınlara yol açabildiği saptanmıştır (Tünger ve ark 2005). Genellikle anne sütü ile beslenmeyen ve dört aylıktan küçük bebeklerde görülmüş ve eylül aylarında saptanmış, EPEC salgınları sıcak aylarda zirve yaptığı mevsimsel bir dağılım gösterdiği bildirilmiştir. (Levine ve ark 1993, Afset ve ark 2003a, 2004b, Behiry ve ark 2011).

1.4.2. Patogenezi

Enteropatojenik *E. coli* invazif olmayan bir organizmadır. EPEC suşu ağız yoluyla alındıktan sonra ince bağırsaklara ulaşır ve hücrelere yapışır. EPEC herhangi bir ekzotoksin üretmez. EPEC suşları üç saat içinde HEp-2/Hela hücrelere lokal veya diffüz adhere olmalarına göre enfeksiyon farklı belirtilerle kansız hafif ishalden ağır seyirli ishale neden olabilir. EPEC suşlarının A/E mekanizması bakteri ile epitel hücre arasındaki bağlanmayı başlatır. Bakterinin bağlanmasını sağlayan plazmid kontrolündeki “bundle formun pili” (*Bfp*) dir. Bu bağlanmada intiminin (*eae*) düzenleyici rolü vardır (Scaletsky ve ark 1984, Tünger ve ark 2005, Çaylan 2017). *eae* adezini ve kısa yüzeyle ilişkili filamanları (*EspA*) barındırırlar. Bakterinin konakçı hücrelerine tutunması ile bir sinyal oluşur. *Bfp* ve *EspA* filamanları epitel hücrelerine tutunur “Translocated *eae*” ve tanımlanmamış pek çok moleküllü konakçı hücrelerine aktarırlar. Bu moleküller sinyalizasyon yolunu aktive eder ve hücrede aktinin depolimerizasyonuna, mikrovilluslarda silinmeye neden olur. Enjekte edilen efektör moleküller hücrenin fonksiyonunu bozar, elektrolit kaybına ve hücre ölümüne neden olur (Fındık 2008).

1.4.3. Klinik

Enteropatojenik *E. coli* kaynaklı ishalin başlangıcı oldukça hızlıdır(bulaştıktan iki ila dokuz saat arasında başlar). Akut ishalin genelde nedeni EPEC olmasına rağmen iki haftadan uzun süren kronik vakalar da tespit edilmiştir. Hastalık huzursuzluk, beslenme bozuklukları ile başlar ve ince bağırsağı etkiler. Tipik bulguları ise kramp tarzında karın ağrısı, ateş, sulu bol mukuslu ishaldir. Dışkı sulu, kan ve lökosit içermeyen, sarı-yeşil renktedir (Tünger ve ark 2005, Çaylan

2017). Klinik olarak diğer ishal etkenlerinden ayırt edilemez fakat kusmanın en sık rastlandığı tipdir. Yenidoğanlarda akut ishale, küçük çocuklarda kronik ishale yol açar (Fındık 2008). EPEC nedenli kronik ishalin hastaneye yatışa yol açma olasılığı diğer ishal patojenlerine kıyasla daha yüksektir (Nguyen ve ark 2006).

1.4.4. Tanı

Enteropatojenik *E. coli* yıllar geçtikçe çoğu suşu köklü serogruplara girmiştir. Fakat serotiplendirilmesi artık bir suşun “EPEC” olarak kabul edilmesi için yeterli değildir. Patojenik özelliklerine göre EPEC "tipik" ve "atipik" olarak ayrılır. EPEC'in ayırt edilebilmesi için fenotipik özelliklerine göre hücre kültürü teknikleri, fluoresan aktin boyama (FAS) testi ve HEp-2 veya HeLa hücre yapışma testi kullanıldı (Knutton ve ark 1989, Knutton ve ark 1991, Shariff ve ark 1993). Birçok laboratuvarıda doku kültürü yapılamamadığından EPEC'in tespiti için genotipik testler, genellikle DNA, prob hibridizasyonunu veya PZR-bazlı yöntemler tercih edilmektedir. EPEC suşlarının tanımlanması için, klinik ve araştırma laboratuvarları tarafından genotipik tespit yöntemleri kabul edilmiştir (Bortolini ve ark 1999, Trabulsi ve ark 2002). Multipleks PZR analizinde sadece *eae* geninin varlığı aEPEC, *eae* ve *bfpA* genlerinin varlığı tEPEC ve olarak değerlendirilmektedir (Souza ve ark 2013). Moleküler yöntemlerde DNA problemleri, Pulsed-field jel elektroforez (PFGE), multipleks PZR gibi analizler EPEC ve diğer DEC patojenleri tanısında kullanılmaktadır (Kurt ve ark 2013). PFGE tipleme için altın standart yöntem olarak kabul edilir ve epidemiyolojik araştırmalarda kullanılır (Swaminathan ve ark 2001). Ayrıca, bakteriler, virüsler ve parazitler olmak üzere birçok ishal oluşturan patojenleri eşzamanlı olarak değerlendirebilen PZR analizleri geliştirilmiştir (Binnicker 2015). Moleküler tekniklerin benimsenmesi, farklı patotiplerin daha hızlı tespitine ve tanımlanmasına olanak sağlamaktadır (Croxen ve ark 2013).

1.4.5. Tedavi ve Korunma

Tüm ishalleri hastalarda rehidratasyon tedavisi önemlidir. EPEC kaynaklı ishal genelde kendi kendini sınırlar ve oral rehidrasyon tedavisi ile tedavi edilebilir. Hafif EPEC enfeksiyonlarında antibiyotik kullanımı önerilmemektedir fakat kronik enfeksiyonlarda antimikrobiyallerin kullanılması tedavide yararlı olabilir. EPEC'in

antibiyotik direnç profili, enfeksiyona yanıt olarak tedavinin başarısını belirlemede önemli bir faktördür, çünkü standart antibiyotiklere karşı çoklu antimikrobiyal direnç gösteren EPEC izolatları bildirilmiştir (Donnenberg ve ark 2005). EPEC enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin etkinliğini sınırlayan diğer faktörler, gelişmekte olan ülkelerde maliyet ve arzıdır (Manning 2010). Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde antibiyotiğe dirençli EPEC'in sıklığı her geçen gün artmakta, penisilinler, sefalosporinler ve aminoglikozitler olmak üzere bir dizi antibiyotiğe direnç göstermektedir (Subramanian ve ark 2009).

Bulaşın temel yolu insandan insana bulaştır, kontamine gıdalarla salgınlar nadirdir. Anne sütü pek çok EPEC virulans faktörüne karşı antikor içerirken EPEC aderansını önler. Anneden bebeğe koruma, kolostrum IgA yoluyla olur (Carbonare ve ark 1997, Loureiro ve ark 1998). Bu sebeple biberonla beslenen bebeklerde risk artmaktadır (Fındık 2008). EPEC'in bulaşmasını ve yayılmasını önleme stratejileri arasında sıhhi şartlarda ve tatlı su kaynaklarında iyileştirmeler ile hijyen kurallarına uyulması yer almaktadır (Maranhao ve ark 2008). EPEC kaynaklı enfeksiyonların yayılması, hastanelerde ve kreşlerde yapılan çok sayıda çalışmayla belgelenmiştir (Levine ve Edelman 1984). Yayılmasını kontrol etmek için şu anda hiçbir aşı bulunmamakta fakat aşı çalışmaları yapılmaktadır (Donnenberg ve ark 2005).

1.5. Enterotoksijenik *Escherichia coli*

Gelişmekte olan ülkelerde ETEC, çocuklarda hem semptomatik hem de asemptomatik taşıyıcılardan izole edilebildiği gibi yenidoğan hayvanlarda ve yetişkinlerde de ishal yaptığını gösteren çalışmalar vardır (Gupta ve ark 2008, DuPont 2009). ETEC, ısıya dayanıksız enterotoksin (LT) veya ısıya dayanıklı enterotoksin (ST) üretim ile tanımlanır ve bağırsak epiteline benzemesi için çeşitli CF'leri taşır (Qadri ve ark 2005).

1.5.1. Epidemiyoloji

Enterotoksijenik *E. coli* en sık gelişmekte olan ülkelerde özellikle küçük çocuklar ve seyahat edenlerde görülmektedir. ETEC'in morbidite ve mortalite oranları yüksektir (Patrick 2009). Arjantin, Bangladeş, Mısır ve Gine-Bissau'daki

çocukları takip eden kohort çalışmaları, toksinlerin ve CF'lerin dağılımına ve bunların ishal hastalığındaki sıklığına ve katkılarına bakmaktadır (Abu-Elyazeed ve ark 1999, Viboud ve ark 1999). Bu çalışmalarda, ST üreten ETEC genelde ishal ile ilişkilendirilmiştir. Küresel enterik çok merkezli vaka kontrol çalışması sadece ST üreten ETEC'i bildirirken, yenidoğan ishaline neden olan LT üreten ETEC'i bildirmemiştir. ST üreten ETEC suşları çocuklarda artmış ölüm riskiyle ilişkilendirilmiştir (Kotloff ve ark 2013). Ayrıca ST üreten veya LT ve ST üreten suşlar 1995-2001 yıllarında ABD'de 10 ETEC salgınına neden olmuştur (Dalton ve ark 1999, Çaylan 2017).

1.5.2. Patogenez

Enterotoksijenik *E. coli* suşları plazmid kontrolünde ısıya dayanıklı/duyarlı ekzotoksineri sıvı elektrolit aşırı salınımını artırır (Patrick 2009). ETEC'in yüzey proteinleri ve yapıları tarafından konakçı epitel yüzeyine yapışarak ince bağırsağın kolonize olmasına ve ishale neden olur. İnce bağırsak epiteline tutunmasını sağlayan >20 farklı yapışma aracı olduğu gibi, noninvazivdir (Biçer 2012). İki farklı Sth ve Stp varyantı belirlenmiştir. Bu toksinler ST ve/veya LT tek enterotoksin ile kombinasyon halinde bulunabilir. Genel olarak ST, ETEC izolatlarının yaklaşık % 75-80'inde bulunur (Qadri ve ark 2005, Çaylan 2017).

1.5.3. Klinik

Enterotoksijenik *E. coli*, koleradakin benzer klinik bir tabloya sahiptir. Hızlı bir şekilde dehidrasyona neden olabilen, genellikle kanlı olmayan sulu ishale sebep olur. Hastalığa bazen baş ağrısı, ateş, karın krampları, bulantı ve bazen az sayıda kusma eşlik eder. ETEC ile ilişkili ishalin başlangıcı genellikle hızlıdır, beş saat kadar kısa bir inkübasyon süresi vardır. ETEC semptomları hafif ve kendi kendini sınırlayıcıdır, genellikle üç ila beş gün süren klinik tabloya yol açar, bazen uzamış hastalık süresi de görülmektedir. Uygun tedavi ile ölüm oranları çok düşürülmektedir (Beatty ve ark 2004, Qadri ve ark 2005, Patrick 2009, Çaylan 2017). ETEC gelişmekte olan ülkelerdeki iki yaşın altındaki çocuklarda, gelişim geriliğine sebep olmaktadır. Bangladeş'teki çocuklarda yapılan çalışmada ETEC enfeksiyonunu geçirmiş bir çocuğun geçirmeyen çocuğa göre gelişiminin geri olduğu saptanmıştır

(Qadri ve ark 2007). Literatürde ayrıca turist ishali geçiren kişilerde bulaşıcı olmayan irritabl bağırsak sendromu geliştirme riskinin beş kat arttığı saptanmıştır (Stermer ve ark 2006).

1.5.4. Tanı

Enfeksiyöz ishallerde serolojik tanının genelde yeri yoktur. Rutinde kullanılmayan fakat bazı enfeksiyöz ishal etkeni, ETEC gibi bakterilerin toksinlerini saptamak için Enzyme linked immuno sorbent assay yöntemlerinden faydalanılabilir (Ulutan 2017). Diyarejenik izolatların tespitinde kullanılan serolojik testler çapraz reaksiyon gösterebildikleri için sensitif ve spesifik değildir (Nishikawa ve ark 2002, Yang ve ark 2007, Çaylan 2017). ETEC, her iki enterotoksinin (LT ve/veya ST) varlığı ile tanımlanır (Souza ve ark 2013). Diğer DEC patotiplerinde olduğu gibi, ETEC MC besiyerinde kommensal *E. coli*'den ayırt edilemediğinden moleküler teknikler kullanılmalıdır. ETEC immünosorbent deneyi, PZR ve monoklonal anti-CF antikorlarla tespit edilir (Qadri ve ark 2005). Ayrıca ETEC için 20 kolonin taranması önemlidir çünkü yalnızca beş koloni taranmasının ETEC'in yaklaşık %50'sini kaçırabileceğini gösteren çalışmalar vardır (Galbadage ve ark 2009). Enterotoksin saptamak için PZR yöntemleri oldukça spesifik ve duyarlıdır. CF'ler de monoklonal antikorlar kullanılarak tespit edilebileceğini gösteren çalışmalar vardır (Sjöling ve ark 2007). PZR-temelli yaklaşımlar, enterotoksinlere veya CF'lere monoklonal antikorların kullanılmadığı çalışmalarda özellikle yararlıdır. ETEC virülans faktörlerini tespit eden multipleks PZR testi geliştirilmiştir (Rodas ve ark 2009).

1.5.5. Tedavi ve Korunma

Enterotoksijenik *E. coli* nedenli ishaller kendi kendini sınırlar. Rehidratasyon ile hidrasyonun sağlanması gerekir. Oral rehidrasyon ve diyet yoluyla sıvı ve elektrolit dengesini korumak önemlidir (Nataro ve Kaper 1998, Qadri ve ark 2005). Ciddi dehidrasyon vakalarında intravenöz rehidrasyonda gerekebilir. Loperamid, yetişkinlerde dışkı sayısının azaltılmasında kullanılabilir ve genellikle antimikrobiyallerle kombinasyon halinde kullanımı güvenlidir (DuPont ve ark 2009). Uygun antibiyotikle tedavi enfeksiyonunun şiddetini ve klinik bulguların süresini azaltır (Glandt ve ark 1999). ETEC'li ishallerde antimikrobiyaller (florokinolonlar,

bizmut subsalisilat, azitromisin, siproflaksasin, trimetoprim-sulfametaksazol, doksisisiklin, eritromisin, norfloksasin, rifamisin, ofloksasin) etkisi kanıtlanmıştır (Kurt ve ark 2013). Antibiyotik kullanma kararı, antibiyotiğe dirençli bakterilerin artması ve diğer bağırsak enfeksiyonlarının gelişmesine yatkınlığın artması gibi olası olumsuz etkilere karşı tartışmalıdır (DuPont 2009). ETEC'in değişen antibiyotik direnç profillerine bakıldığında, izolatların yaklaşık %60'ının trimetoprim-sulfametoksazol ve tetrasikline karşı yaklaşık %50'sinin ise ampisiline dirençli olduğu bulunmuştur (Mendez Arancibia ve ark 2009).

Antibiyotik kullanan çocuk hastaların %11-40'ında tedavide ve tedavinin kesilmesini takiben antibiyotik ile ilişkili ishal riskinin azaltılmasında, probiyotik kullanımı etkilidir. *Saccharomyces boulardii* ile çeşitli laktobasiller içeren probiyotiklerin turist ishalinde enterik patojen mikroorganizma kolonizasyonunu engellediği bildirilmiştir (Johnston ve ark 2011).

Turist ishalinde altın standart “ yıka, soy, kaynat veya unut” dur (Çaylan 2017). Bizmut subsalisilat kullanımı 21 günden kısa süren turist ishallerinde etkilidir. Önemli seyahatlerde korunmak için doksisisiklin veya kinolonla, kotrimoksazol alınabilir fakat turist ishallerinde antimikrobiyal profilaksi önerilmemektedir. Turistlere kemoprofilaksi, immünoprofilaksi, güvenli gıda ve su tüketmeleri önerilir (Rojas-Lopez ve ark 2018). ETEC için aşı çalışmaları yapılmaktadır (Donnenberg ve ark 2005, DuPont 2009). Coğrafyaya bağlı ETEC izolatları farklılık gösteren bir virülans profiline sahip olduğundan aşı gelişimi zorlaşmıştır (Walker 2007).

1.6. Enteroinvazif *Escherichia coli*

Shigella türleri ve EIEC fakültatif hücre içi patojenlerdir. Basilli dizanteri veya şigellozun etiyolojik mikroorganizmalarıdır (Shiga 1898, Trofa ve ark 1999, Lan ve ark 2004).

1.6.1. Epidemiyoloji

Shigella ve EIEC 'in konvansiyonel konaktan konağa iletimi, fekal oral yolla olduğu gibi kontamine su ve gıda bulaşa aracılık eder (Lampel ve ark 2012).

Hastalık, gönüllü çalışmalarda gözleendiği gibi, insanlarda ve insan dışı primerlerin, 10 ila 100 cfu *Shigella* kadar bulaşıcı bir doza sahip olmalarına neden olur (DuPont ve ark 1989). EIEC daha az etkili olma eğilimindedir (Hsia ve ark 1993).Epidemiyolojik araştırmalarda klinik belirtileri hafif olması nedeniyle EIEC yetersiz tespit edilmektedir. *Shigella*'ya benzer biyokimyasal, virulans genleri, moleküler filogeni ve patojenik benzerliği olan EIEC suşları yanlış sınıflandırılabilir, oysa laktoz fermantasyonu gibi kommensal *E. coli* özelliklerine sahip EIEC suşları, ilgili araştırmalarda tespit edilemeyebilir. Bu nedenle EIEC'in belirli bir coğrafi örüntüsü yoktur (Croxen ve ark 2013).

Gelişmekte olan ülkelerde endemik enfeksiyonlara gelişmiş ülkelerde ise ara sıra salgınlara neden olur (Gordillo ve ark 1992). 2003'den itibaren Orta ve Güney Amerika, Afrika ve Asya'daki çalışmalardan 10'dan fazla vaka ile birkaç EIEC salgını bildirilmiştir (Ratchtrachenchai ve ark 2004, Vieira ve ark 2007, Okeke 2009, Pérez ve ark 2010).

1.6.2. Patogenez

İshal patogenezinde rol oynayan bir veya daha fazla sekretuar enterotoksin vardır (Nataro ve Kaper 1998). EIEC yüksek derecede invazif patojenlerdir. Bu patojenler, düşük gastrik pH, sıcaklık değişiklikleri, oksijen kullanılabilirliği ve oksidatif stres ve ayrıca osmolarite dahil olmak üzere, enfeksiyon sırasında karşılaştıkları çeşitli çevresel zorluklara kolayca uyum sağlar (Marteyn ve ark 2012). EIEC suşları plazmid kontrolünde kalın bağırsak epitel hücrelerini invaze ederek fagositlerden kaçır, sitoplazmaya yayılarak hücreden hücreye geçer, apoptozisi indükler ve makrofajlardan parainfamtuar sitokinleri salgılatırarak invaze etme kabiliyeti ile hücre harabiyetine yol açar (Donnenberg ve ark 2005). *S. flexneri* araştırmasındaki gelişmeler, EIEC patogenezini, hücresel ve moleküler seviyelerdeki temelini oluşturmaktadır (Schroeder ve Hilbi 2008, Carayol ve Van Nhieu 2013) .

1.6.3. Klinik

Enteroinvazif *E. coli* diğer patojenlerin neden oluğu ishallere benzediğinden ayırt edilememektedir (Donnenberg ve ark 2005). Komplikasyonları, bulaşıcı

maddeye, konağın immün sistemine ve mevcut tıbbi altyapıya bağlı olarak klinik tablo değişir. Hastalığın, erken evrelerinde genellikle hafif sulu ishal, yorgunluk, halsizlik, ateş ve iştahsızlık gelişir. Buna tipik olarak ciddi karın krampları, tenesmus, bazen kanlı ve mukuslu yetersiz dışkı ve dehidrasyon eşlik eder. Shigella'ninkine benzer bir ishal oluşturur ve dizanteriye dönüşebilir (Patrick 2009). Bulgular genelde kendi kendini sınırlayıcı tiptedir. EIEC gelişmekte olan dünyanın özellikle genç, çoğunlukla yetersiz beslenen ve bağışıklık sistemi baskılanmış çocukların enfekte etmektedir. Tedavinin erişimin kısıtlı olduğu bölgelerde ciddi ve hayatı tehdit edici komplikasyonlar ortaya çıkabilir (Butler 2012).

1.6.4. Tanı

Kobay gözüne bakterinin inoküle edilerek konjonktivit oluşturması (Sereny testi) ile EIEC'in invazyon özelliği gösterilebilir ve kanlı dışkı örneklerinde çok sayıda polimorfonükleer lökosit varlığının mikroskopik tespiti iki olası fenotipik tahlildir (Kopecko 1994, WHO 2011). Sereny testi zahmetli ve EIEC'i kesin bir şekilde tanımlamaz. Tanının güvenilir olabilmesi için, dışkı örneklerinin tamponlu gliserol salin veya Cary-Blair taşıma ortamında depolanması gerekir (Niyogi 2005). EIEC için sıklıkla kullanılabilecek Shigella'nın biyokimyasal tanımı, ayırt edici/seçici ortam kullanır ve çoğunlukla hemen hemen tüm Shigella suşlarının özelliklerine odaklanılır (Von Seidlein ve ark 2006, Panchalingam ve ark 2012). Diğer *E.coli* patotiplerinden EIEC, hareketsiz, lizin dekarboksilaz negatif, laktozu yavaş fermente etmesi, sitrat kullanamama ve üreaz aktivitesinin negatif olması ile ayrılır (Strockbine ve Maurelli 2005). Yeterli donanım ve bilimsel eğitim mevcutsa, invazif plazmid antijeni H geni (*ipaH*) veya invazif ilişkili lokus geni (*ial*) tespiti için PZR spesifik bir tanı aracıdır (Fidan ve ark , Souza ve ark 2013). EIEC/Shigella ve diğer patojenik ajanları aynı anda tanımlamak için multipleks PZR test yapılabilir (Barletta ve ark 2013). 5 virüs, 13 bakteri (EIEC/Shigella dahil), 4 parazit olmak üzere 22 patojeni tespit eden multipleks PZR FilmArray sistemi mevcuttur (Guerrant ve ark 2001). Bakteriyel izolat EIEC olarak tanımlandıktan sonra, sırasıyla serogrup ve serotip, antiserumlarla slayt aglütinasyon testleri ile doğrulanabilir (Von Seidlein ve ark 2006, Panchalingam ve ark 2012). Antiserum bazlı serotiplemeye alternatif yaklaşımlar da geliştirilmiştir (Coimbra ve ark 2010). Genomik sekanslama verilerinin artması, kesin EIEC serotiplemesi için kullanılabilecek yeni genetik

markırların aranmasını kolaylaştırır. Klinik izolatların değerdendirilebilmesi için ve genom bazlı ek tiplleme yöntemleri, EIEC'in tanımlanması, gözetimi ve risk değerdendirmesinde büyük katkı sağlar. Multilokus sekans tiplleme, klinik izolatları tanımlayan ve genomik ilişki derecelerini belirleyen bir araçtır (Choi ve ark 2007).

1.6.5. Tedavi ve Korunma

İshalli hastalarda tanı için tam kan sayımı istenmesede EIEC ile meydana gelen basilli dizanteri lehine tanıya yardımı olur. İshalle seyreden enterik ateşte ALT ve AST yüksekliğı enfeksiyon tanısı için önemlidir. Hastalarda dehidratasyon var ise BUN, kreatinin ve elektrolit takibi önemlidir (Ulutan 2017). WHO tarafından geliştirilen etkili oral rehidrasyon, ishal tedavisindeki temel ilk adımdır (WHO 2011). İkinci adım, antimikrobiyal tedavinin semptomların süresini kısalttığı ve ciddi komplikasyon ve ölüm riskini azalttığı kanıtlanmıştır (Niyogi 2005). Antibiyotik bazlı strateji için hastanın yaşı, hastalığın şiddeti ve antibiyotik duyarlılık paterni dikkate alınmalıdır. Yetişkin tedavisi için ise florokinolonlar ve azitromisin, önerilmektedir. Hafif belirtili EIEC enfeksiyonu kendi kendini sınırlar ve sıklıkla antibiyotik tedavisine gerek kalmaz (DuPont 2009, Feng ve Sun 2012, Pfeiffer ve ark 2012). 1970 ve 2000 yılları arasında Kuzey ve Güney Amerika, Afrika ve Asya'dan EIEC suşlarından kapsamlı bir analizi yapılmış, izolatların %48'inde tetrasiklin direnci gösterilmiştir (Hartman ve ark 2003). Ayrıca, Japonya'daki EIEC izolatları için tüm birinci basamak antibiyotiklere direnç bildirilmiştir (Ahmed ve ark 2005). İshal hastalıklarının ciddiyetini ve süresini azalttığı için çinko takviyesi de önerilmektedir (Bhandari ve ark 2008, WHO 2011). Ayrıca, beslenme tedavisinde yeşil plantainlerin, ishal hastasının kilo alımını artırarak hastalığın süresini kısalttığı bildirilmiştir (Rabbani ve ark 2009). Alternatif olarak, Aegle marmelos meyveli lektin kullanımı veya Brezilya Cymbopogon martinii'den elde edilen uçucu yağ gibi terapötik yaklaşımların antimikrobiyal aktivite göstermesi umut verici olmuştur (Duarte ve ark 2007, Raja ve ark 2011).

Gelişmekte olan bazı alternatif seçeneklere rağmen, antibiyotik tedavisi hala EIEC'e karşı en etkili tedavidir. Bölgesel antibiyotik duyarlılık paternlerini de hesaba katan kontrollü ve akıllıca antibiyotik kullanımı, çoklu antibiyotik dirençli suşların ortaya çıkmasını yavaşlatacaktır. Sağlık koşullarına ve temiz içme suyuna erişim ve

sağlıkta eğitimin geliştirilmesi EIEC'in azaltılmasında önemli bir adımdır (Croxen ve ark 2013). EIEC için aşı mevcut değildir (Levine ve ark 2007, Kweon 2008, Camacho ve ark 2013).

1.7. Enterohemorajik *Escherichia coli* ve Shiga Toksin Üreten *Escherichia coli*

Verositotoksin üreten *E. coli* veya STEC *stx*₁ ve/veya *stx*₂ üretirler. Tespit edilen 400'den fazla STEC serotipi olmasına rağmen, bunların sadece bir alt grubu insanlarda hastalık ile ilişkilendirilmiştir (Blanco ve ark 2004). Enterohemorajik *E. coli*, STEC'in bir alt kümesidir. EHEC klinik olarak shigellozdan farklı olan ve EPEC'den farklı olan genotipik ve fenotipik özelliklere sahip olan Hemorajik kolit ile ilişkisi ile tanımlanmıştır (Nataro ve Kaper 1998). Genellikle, EHEC LEE (enterosit efüzyon lokusu) pozitif ve A/E lezyonları oluşturur. EHEC *eae* ve *stx*₁ ve/veya *stx*₂ toksinleri üretir (Fındık 2008). En yaygın serogrup EHEC O157:H7'dir ve özellikle patogenezi moleküler mekanizmalar için birçok çalışmaya konu olmuştur. ABD Tarım Bakanlığı 6 EHEC serogrup (O26, O45, O103, O111, O121 ve O145) ilan etmiştir. İnsanlarda ağır seyirli hastalıklarla ilişkili en sık rastlanan O157 STEC suşlarıdır (Almanza 2011).

1.7.1. Epidemiyoloji

Shiga toksin üreten *E. coli* 'nin gözetimi ve kontrolü halk sağlığı merkezlerinin temel odağı haline gelmiştir. Öncelikli odak *E. coli* O157:H7'nin saptanmasına odaklanırken, non-O157 STEC'inde Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa'daki sporadik vakalara ve salgınlara da neden olduğu görülmüştür. Gıda Hastalıkları Aktif Gözetleme Ağı adlı bir program, ABD'de gıda kaynaklı hastalıkların aktif olarak izlenmesini sağlamaktadır (Allos ve ark 2004, Scallan ve ark 2011). FoodNet ABD nüfusunun %15'ine gözetim sağlamaktadır (Swaminathan ve ark 2001).

Shiga toksin üreten *E. coli*, asemptomatik olarak kedi, köpek, keçi ve sığırların bağırsaklarında kolonizedir (Donnenberg ve ark 2005). Özellikle gelişmiş ülkelerde, beş yaşın altındaki çocuklarda ve yaz mevsiminde prevelans sıktır (Serter ve ark 2000). ABD'de, 2011 'de FoodNet tarafından bildirilen vaka sayısı 984'tür,

STEC vakalar ı yatış oranları %61,4'tür. Ümit verici olan şu ki, STEC O157: H7'nin görülme sıklığı, 1996-1998'e kadar görülme oranına göre 2011 yılında %42 oranında düşmüştür (Control ve Prevention 2012). 2005-2010 yıllarında Washington'da non-O157 STEC vakaların artmış olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar bu artışın testlerdeki değişikliklerden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir (Stigi ve ark 2012). Ulusal Enterik Sürveyans Programı (NESP) tarafından bildirilen Kanada'da görülme sıklığı, 2005 (2,28/100 000) ve 2006'daki (3,0/100 000) olaylara kıyasla 2010'daki STEC O157:H7 vakalarında (1,18/100 000) artmıştır (WHO 2011). NESP, non-O157 STEC insidansının son yıllarda değişmediğini bildirdi. Avustralya'da, 2000'den 2010'a kadar STEC insidansının, hafif bir artışla 0,4/100 000 olduğu bildirilmiştir (Vally ve ark 2012). Avrupa'da, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) ve Avrupa Gıda Güvenliği Merkezi (EFSA), 24 Avrupa Birliği üyesi ülkenin STEC vakalarına ilişkin raporunu; Avrupa Birliği için 2009'da STEC görülme sıklığının 0,75/100 000 olduğunu bildirdiler (WHO 2011). ECDC/EFSA, tespitlerindeki farklılıklar nedeniyle ülkeler arasındaki vakaların karşılaştırılmasını önermektedir (Croxen ve ark 2013).

1.7.2. Patogenez

Ağız yoluyla alınan ve kalın bağırsaklara ulaşan EHEC suşları hücrelere tutunur, *eae* etkisi ile kansız sulu ishale yol açar. İshalin inkübasyon süresi 3-4 gündür. Shiga toksinleri kontrolünde protein sentezinin bozulmasına; "yapışma-bozma" özel tutunumları ile intestinal mikrovillus harabiyetine sebep olur ve emilim azalır (Serter ve ark 2000, Tünger ve ark 2005).

Shiga toksin adını *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) serotip1 tarafından üretilen bir sitotoksine benzerliğinden almaktadır (O'Brien ve ark 1982). *Stx*₁, *S. dysenteriae* tip 1 tarafından üretilen shiga toksiniyle hemen hemen aynıdır fakat *Stx*₂ ise bu toksinlere benzerliği %50-60 'dır. *Stx*₂, 2c, 2d, 2e ve 2f olmak üzere 5 değişik varyantları vardır. STEC bu toksinlerin birini veya her ikisini de üretebilir. Ciddi klinik semptomlara ise daha çok *stx*₂ üreten *E. coli* O157:H7 sebep olmaktadır (Koneman ve ark 1997).

1.7.3. Klinik

Shiga toksin üreten *E. coli* enfeksiyonları, hafif sulu ishalden ağır seyirli kanlı ishale (Hemorajik kolit) kadar değişebilir ve HÜS (Hemolitik üremik sendrom) gelişimi için risk oluşturur. Özellikle çocuk ve yaşlılarda ölümle sonlanabilen kliniğe neden olabilmektedir. Şiddetli karın ağrısı ve önce sulu ardından bol kanlı ishalle Hemorajik kolit, HÜS ve Trombotik Trombositopenik Purpura gibi ciddi hastalıklara neden olabilir (Şahin 2005). STEC hem O157 hem de non-O157 STEC benzer klinik bulgulara neden olabilir. Ancak hastalık şiddeti farklı serotipler arasında farklılık gösterebilir ve dolayısıyla bir seropatotip sınıflaması önerilmiştir (Karmali ve ark 2003). STEC O157:H7 için semptomların başlamasından önceki inkübasyon süresi, yaklaşık 3 gündür (Bell ve ark 1994). Hastalarda ishal başlangıcından sonraki günlerde Hemorajik kolit gelişebilir. Genelde, STEC O157:H7'nin, O157 STEC'den daha yüksek oranda kanlı ishale neden olduğu düşünülmektedir (Jelacic ve ark 2003). İshalin tedavisi ve bulaşın önlenmesi için kanlı ishal hastalarının hastanede tedavi edilmesi önerilmiştir (Tarr ve ark 2005). STEC O157:H7'nin nedenli ishal, genellikle başlangıçtan sonra bir hafta sürerken, non-O157 STEC ishal daha uzun sürebilir (Pai ve ark 1988). STEC O104:H4 Alman salgınında hastalığı geçirme süresi erişkinlerde yaklaşık 2 hafta ve çocuklarda bir aydan daha fazladır (Vonberg ve ark 2013).

1.7.4. Tanı

Patojenik *E. coli* için geleneksel kültür teknikleri zaman alıcı ve zahmetli olabilir (Croxen ve ark 2013). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, STEC izolasyonu ve tanımlama yöntemlerini kültür tekniklerini açıklamıştır (Gould ve Group 2012). Genelde STEC O157:H7 izolatları, sorbitolü fermente edemediğinden, Sorbitollü MacConkey (SMAC) kültürlerinde açık renkli koloniler olarak ayırt edilebilir. Laboratuvar maliyetlerini azaltmak için diğer kromojenik seçici kültürlerde de üretilebilir. Bu koloniler daha sonra lateks aglütinasyon testleri kullanılarak O157 ve H7 antijenleri için kontrol edilebilir (March ve Ratnam 1986, Church ve ark 2007). Kuzey Amerika'da nadir olmasına rağmen, SFO157:NM, diğer sorbitol fermente *E. coli* suşlarından kolayca tespit edilemeyebilir ve SMAC besiyerleri üzerinde kolayca gözden kaçırılabilir. Ayrıca, sefiksim-tellüritli SMAC

besiyerleri kullanımı, SUR157:NM izolatlarını tellürite duyarlılıklarından dolayı gözlenebilir (Bielaszewska ve ark 2007, Bielaszewska ve ark 2011). Bir suşun STEC olarak sınıflandırılması için *stx*₁ veya *stx*₂ toksininin tespit edilmesi gerekir ve bu, enzim immünolojik test kitleri ile yapılabilir (Gould ve ark 2009, Gould ve Group 2012). PZR analizlerinde *eae* ve *stx*₁ ve/veya *stx*₂ genlerinin pozitif bulunması EHEC olarak değerlendirilir (Souza ve ark 2013).

STEC O157:H7 genellikle fenotipik olarak tanımlanırken, non-O157 STEC diğer *E. coli* suşlarından kolayca ayırt edilemez, çünkü sıklıkla sorbitol fermente eder ve SMAC'ta pembe koloni olarak ürerler. SMAC'dekine kıyasla hem O157:H7 hem de non-O157 STEC tespitinin duyarlılığını arttırmak için enzimatik testler geliştirilmiştir (Mackenzie ve ark 2000, Gould ve ark 2009, Hermos ve ark 2011). STEC'i saptamak için mikrodiziler, matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu- uçuş kütle spektrometresi ve mikro boncuklar kullanılarak serotipleme yöntemleri geliştirilmiştir (Lin ve ark 2011, Norman ve ark 2012). Kantitatif PZR panelleri ayrıca, belirli STEC izolatlarını görüntülemek üzere O157 antijeni, *stx*, *eae*, *ehx*, *fliC* ve O-antijen genleri gibi çoklu genlere bakmak için geliştirilmiştir (Gonzales ve ark 2011)

1.7.5. Tedavi ve Korunma

Genellikle STEC enfeksiyonu kendi kendini sınırlar ve bir hafta sonra düzelir (Pai ve ark 1988). STEC enfeksiyonundan sonra HÜS gelişimini önlemenin bir yolu yoktur (Ahn ve ark 2009). Çalışmalar, 18 yaşın altındaki çocuklarda, intravenöz sıvılar verildiğinde HÜS'E karşı böbrek korumasını sağlamıştır (Hickey ve ark 2011). STEC enfeksiyonlarının klinik yönetimi için öneriler; intravenöz sıvıların kullanımı, böbrek fonksiyonları ve trombosit izleme ve antitrombotik ilaçları, ağrı kesici ilaçlar ve antibiyotik kullanılmamasıdır (Holtz ve ark 2009). HÜS'un tedavisi olmadığından, etkili alternatif yöntemler geliştirilmektedir (Goldwater ve Bettelheim 2012). O157 STEC enfeksiyonlarında antimikrobiyal tedavi tartışmalıdır. Bazı araştırmalar antimikrobiyallerin HÜS riskini artırdığını yazarken, yayınlanmış raporların metaanalizinde önemli derecede artmış bir risk saptanmamıştır (Safdar ve ark 2002). STEC tedavisi için antibiyotik önerilmemektedir. STEC çeşitli antimikrobiyallere ampisilin, streptomisin, sülfonamidler, tetraksilin ve trimetoprim'e

karşı direnç göstermiştir (Ogura ve ark 2009, Venturini ve ark 2010, Control ve Prevention 2019).

Laboratuvarında değerlendirilen diğer stratejiler, *Lactobacillus acidophilus*'un salgılanan molekülleri gibi, STEC O157:H7'nin in vitro olarak epitel hücrelere yapışmasını önleyen probiyotikleri içerir (Medellin-Pena ve Griffiths 2009). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri STEC O157:H7'nin laboratuvarında üremesini önlediği saptanmıştır (Mogna ve ark 2012). Manganez iyonlarının hücre ölümünü önlediği bulunmuştur (Mukhopadhyay ve Linstedt 2012).

Korunma için; hijyen kurallarına uyulması, pastörize süt kullanılması, etlerin iyice pişirilerek yenilmesi vs önlemler (Paton ve Paton 1998). Aşılar STEC'e karşı geliştirilmektedir Bu stratejilerden bazıları, sığır gibi rezervuarlarda taşıyıcılık, hastalık ve yayılmayı azaltmaya yöneliktir (Potter ve ark 2004, Goldwater ve Bettelheim 2012).

1.8. Enteroagregatif *Escherichia coli*

Enteroagregatif *E. coli*, bir vaka kontrol çalışmasından 500'den fazla izolatin aderans paternlerini karşılaştırarak tanımlanmıştır (Nataro ve ark 1987). EAEC dünya çapında endemik ve salgın ishallere sebep olan patolojik tiplerden biridir (Bhan ve ark 1989). EAEC'in endemik olduğu bölgelerde çocuklarda ve HIV ile enfekte olmuş hastalarda kronik ishale ayrıca turist ishaline neden olan etkenlerdendir (Mathewson ve ark 1998, Okhuysen ve DuPont 2010).

1.8.1. Epidemiyoloji

Tüm DEC suşları için küresel süveyansın geçmişte sınırlı olması nedeniyle, EAEC ile ilgili tarihi verileri de sınırlıdır (Nataro ve ark 2006). EAEC, 1997'de Japonya'da 2 697 çocukta ishale neden olmuştur. Yine 1997'de, Hindistan'da ishal salgını meydana gelmiş, nüfusun yaklaşık %15'inde EAEC görülmüştür (Pai ve ark 1997). EAEC salgınları, Libya, Nijerya, Mali ve Sahra altı Afrika'da saptanmıştır (Dow ve ark 2006, Okeke ve ark 2010, Boisen ve ark 2011, Kotloff ve ark 2013).

EAEC, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sporadik ishale ve “turist ishali” etkeni olarak bildirilmiştir (Tünger ve ark 2005).

Enteroagregatif *E. coli* ve STEC hibrit soyları da tanınmaktadır. Stx kodlayan suş, hem tipik EAEC suşlarında hem de STEC'de bulunan virülans genlerini taşıyan hibrit bir patojen olan *E. coli* O104:H4 olarak tanımlanmıştır (Mellmann ve ark 2011, Rasko ve ark 2011, Estrada-Garcia ve Navarro-Garcia 2012). Almanya'daki 2011 salgınında, 900'den fazla hastanın HÜS geliştirdiği ve 50'den fazla ölümün olduğu 16 ülkeden 4 321 sağlıklı kişiyi hastalandırıldığı tespit edilmiştir (Grad ve ark 2012). EAEC, Japonya, Kuzey İrlanda ve Orta Afrika Cumhuriyeti'nden bildirilen HÜS hastalarından stx-pozitif EAEC izolatları Shiga toksinleri edinme düzenine sahiptir (Iyoda ve ark 2000, Mossoro ve ark 2002, Dallman ve ark 2012). Bu vakalar gelecekte salgın olasılığını göstermektedir (Croxen ve ark 2013).

1.8.2. Patogenez

Enteroagregatif *E. coli*'nin bazı suşları ince bağırsakları enfekte ederken diğerleri de hem ince bağırsağı hem de kalın bağırsağı enfekte eder (Harrington ve ark 2006). EAEC, epitel hücrelerine diffüz ve agregatif iki farklı fenotip sergileyerek adhere olur (Tünger ve ark 2005, Biçer 2012). Hep-2 hücrelerine fimbriyaları aracılığı ile agregasyon gösterir. Suşlar bağırsak hücrelerine yapıştıktan sonra mukozada histolojik değişiklik meydana getirmezler. İnflamatuvar hücre olmaksızın görülen sulu dışkılamada akla getirilmesi gereken bir etkidir (Çaylan 2017).

Non-Stx varyantlar için, EAEC suşu 042, gönüllülerin çoğunda ishale neden olduğu için, ishal hastalığına neden olan virülans faktörlerini ve diyarejenik EAEC'ın patojenitesini incelemek için prototipik bir suş olarak kullanılmıştır (Nataro ve ark 1995). Bununla birlikte, sayısız adezinler, toksinler ve virülansla ilişkili proteinler için kodlama genleri, suşlar arasında oldukça değişkendir. Çocuklardan beş farklı non-Stx EAEC izolatı bir çalışmada, her suş jejunal, ileal ve kolonik mukoza için farklı bir yakınlığa sahipti. Farklı Stx EAEC suşları arasındaki heterojenliğe rağmen, non-Stx EAEC patogenez için üç bölümden oluşan bir model ortaya çıkmıştır: bağırsak mukozasına bağlılık, enterotoksin ve sitotoksin üretimi ve mukozal

iltihaplanma (Nataro ve ark 1996, Okeke ve ark 2010, Estrada-Garcia ve Navarro-Garcia 2012) .

1.8.3. Klinik

Genelde 0-5 yaş arası çocuklarda birkaç gün inkübasyondan sonra bulantı, kusma, karın ağrısı, düşük dereceli ateş, dehidratasyon ve bol sulu, ara sıra kanlı dışkı genelde kansız dışkı, mukoid dışkılama ile kendini klinik bulgularla gösterir (Nataro 2005). Hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde, hem yetişkinleri hem de çocukları etkiler (Al-Gallas ve ark 2007, Denno ve ark 2012). Ayrıca HIV ile enfekte hastalarda akut ve kronik ishale ve çocuklarda da kronik ishale neden olur (Johnson ve ark 2000, Cárcamo ve ark 2005). EAEC enfeksiyonlarından kaynaklanan en önemli halk sağlığı sorunu, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda bağırsak epiteline zarar verdiği için, besin maddelerini emme yeteneğini azaltan kronik enflamasyona neden olur ve yetersiz beslenmeye sebep olur (Suzart ve ark 2001, Guerrant ve ark 2008). EAEC postinfeksiyöz irritabl bağırsak sendromu geliştirme olasılığı, akut enfeksiyöz gastroenteritten sonra artmakta, bazı çalışmalarda bir etken olarak diğer enteropatojenlerin yanı sıra bildirilmektedir (Thabane ve ark 2007).

1.8.4. Tanı

Enteroagregatif *E. coli* 'yi tanımlamada altın standart yöntem, statik Luria buyyonunda 37°C'de hasta başına beş koloni kültürü yapmaktır. 3 saat boyunca HEp-2 hücrelerini enfekte ederek yapışma modelini aramaktır. Bu yöntem patojenik ve patojenik olmayan suşlar arasında ayırım yapmaz. EAEC olan çocuklarda EAEC genlerinin dağılımını inceleyen dört farklı çalışmanın meta-analizinde, *aafA*, *astA* ve *4A18* genlerinin tümü, akut ishal hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmalarda EAEC suşlarında farklı genler saptanmıştır. EAEC suşları arasındaki heterojenliği ve tanımlanmış virülans özelliklerinin yetersizliği bulunmuştur (Dudley ve ark 2006, Huang ve ark 2006). EAEC suşlarında virülans genlerini tanımlamak için PZR deneylerinin kullanılması problemlidir, çünkü AA bağlama düzenine sahip olan tüm EAEC türleri ishale sebep olur. Bunlar arasında, patojenik ve patojenik olmayanları ayıran gen veya gen dizisi yoktur (Estrada-Garcia ve Navarro-Garcia 2012).

Tipik EAEC suşlarındaki *aggR* geni, yapışma ve toksin üretimine dahil olan birçok virülans faktörü için pozitif bir regülatör kodlayıcıdır (Harrington ve ark 2006, Aslani ve ark 2011). Sağlıklı insanlardanda *aggR* genini taşıyan ishal dışı EAEC suşları da izole edilmiştir. *aggR* genin ishalleri bir hastadan saptanması, ishalin nedensel etkeni olduğunu göstermez (Jenkins ve ark 2006, Navarro-Garcia ve Elias 2011). *aggR* genini tanımlamak için birçok PZR-bazlı analiz geliştirilmiştir. *aap*, *astA* ve *set1A* gibi ek virülans genlerinin tespiti, ishale neden olan suşların tespitini önemli derecede artırır (Huang ve ark 2007, Cennimo ve ark 2009). Gastrointestinal salgınlarda *aggR* genini taşımayan suşlar da izole edilmiştir (Čobeljčić ve ark 1996). Plazmid ile taşınan gen *aatA* veya kromozomal olarak taşınan *aaiC* lokusunun multipleks PZR ile çoğaltılması, EAEC'i doğrulamak için yeterlidir (Panchalingam ve ark 2012).

1.8.5. Tedavi ve Korunma

Enteroagregatif *E. coli* suşları florokinolonlara duyarlı olduğu halde, çoğu antimikrobiyale dirençlidir. Tedavide EAEC çeşitli antibiyotiklere karşı giderek direnç kazandığı için, o bölgenin antimikrobiyal duyarlılık paternlerine uygun antibiyotiğin seçimi, enfeksiyonun kazanıldığı coğrafi bölge dikkate alınmalıdır (Ouyang-Latimer ve ark 2011). EAEC enfeksiyonları siprofloksasin ve florokinolonlarla etkili şekilde tedavi edilir (Glandt ve ark 1999). Ancak çoklu antibiyotiğe dirençli suşlar da vardır (Mortensen ve ark 2011). ABD'deki yetişkin hastalarda, EAEC rifaximin veya loperamid içeren veya içermeyen azitromisin dozuna duyarlıdır (Ericsson ve ark 2007). Laktoferrin ile tedavi, EAEC enteroadezyonunu ve biyofilm oluşumunu inhibe ederek, EAEC'in önlenmesi için potansiyel tedavi olmasını sağlar (Flores ve Okhuysen 2009, Ochoa ve Cleary 2009).

Kuzey Almanya'daki 2011 salgınından önce, *stx* içeren EAEC için standart bir tedavi uygulanmamıştır. 2011 salgınında ise, *stx* ile ilişkili HÜS'lu 3 çocuk, eculizumab ile hızlı klinik iyileşme göstermiştir (Lapeyroue ve ark 2011). Genelde antibiyotikler STEC için önerilmez, çünkü HÜS gelişme riskini artırırlar. Bu risk nedeniyle, *stx* eksprese eden EAEC suşu O104:H4'ü tedavi eden klinisyenler, in vitro *stx* ekspresyonunu baskılayan azitromisin seçmiştir. Azitromisin alan hastalarda

STEC izlenmesi bu hastaların hızla dekolonize olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, STEC O104:H4'ün > 28 gün süreli taşıyıcıları azitromisin ile tedavi edilmiş ve hastalar HÜS ile ilişkili semptomlar göstermemiştir (Nitschke ve ark 2012, Hauswaldt ve ark 2013). Çalışmalarda, siprofloksasin STEC O104:H4'te *stx* üretimini arttırdığını ancak meropenem, rifaximin, tigesiklin ve azitromisinin artırmadığını göstermiştir. Hastalarda *stx* pozitif suşları ortadan kaldırmak için azitromisin kullanımı hala tartışmalıdır (Seifert ve Tarr 2012, Hauswaldt ve ark 2013).

Kişisel hijyen kurallarına uyulması, suyun temiz ve güvenilir olması, gıdaların tüketiminde hijyenik kurallara uyulması, etlerin iyi pişirilerek tüketilmesi, uygun tuvalet kanalizasyon sistemi kontrolü, yenidoğanların anne sütü ile beslenmesi, vektör kontrolü gibi önlemler etkilidir (Cengiz ve ark 2004). EAEC proteinleri antijenik olduğu için, aşının geliştirilebilmesi mümkündür, ancak mevcut bir aşı yoktur (Flores ve Okhuysen 2009).

1.9. Diffüz Aderan *Escherichia coli*

Enteroagregatif *E. coli* suşları gibi DAEC'de aderans özellik göstererek ishal oluşturan patolojik tiplerden biridir (Fındık 2008). DAEC, kültürde HEp-2 hücrelerine dağınık yapışması ile klasik olarak tanımlanmıştır. Benzersiz bir grup olarak ortaya çıkmış ve diğer patolojik tiplerden ayrı olarak kabul edilmiştir. Sınıflandırma ve tanımlamadaki zorluklar nedeniyle DAEC'in farklı bir enterik *E. coli* patotipi olarak tanımlanması daha fazla epidemiyolojik çalışma gerektirmektedir (Fındık 2008, Snelling ve ark 2009).

1.9.1. Epidemiyoloji

Diffüz aderan *E. coli*'nin diyarejenik suşları için tespit yöntemleri hala geliştirilmektedir. Halen ishalden sorumlu olan klinik bir ortamda suşları tespit etmek için evrensel bir yöntem yoktur. Bu nedenle, diyarejenik DAEC'in epidemiyolojisi belirsizliğini korumuştur. DAEC izolatları Meksika, Avustralya, Birleşik Krallık, Brezilya, Peru ve Kolombiya'da ishal olan çocuklarda tanımlanmıştır (Giron ve ark 1991, Gunzburg ve ark 1993, Knutton ve ark 2001, Lopes ve ark 2005, Gómez-Duarte ve ark 2010, Ochoa ve ark 2010). DAEC

Brezilya'da 200 ishali çocuğun %23'ünde saptanmış ve ishale neden olan yaygın bir patotip olduğu ileri sürülmüştür (Gomes ve ark 1998). Bazı çalışmalar ishali hastalarda DAEC suşlarını, asemptomatik kontrollerde daha sık tespit ederken, bazı çalışmalar farklı olmadığını bildirmişlerdir. Bu, DAEC suşlarını hızlı ve kesin olarak tanımlamak için bir yöntem geliştirmenin önemini göstermiştir. DAEC'in nasıl iletildiği veya rezervuarı bilinmemektedir (Çaylan 2017).

1.9.2. Patogenez

Prototipik C1845 suşu Afa/Dr adezinlerini kodlayan bir DAEC suşudur. Afa/Dr yapışkanları, AfaE-I, AfaE-II, AfaE-III, AfaE-V, Dr, Dr-II, F1845 ve NFA-I yapışkanlarını içeren bir adezin sınıfıdır (Le Bouguénec ve Servin 2006). Afa/Dr DAEC'de, Dr ve F1845 yapışkanları, polarize epitel hücrelerin apikal yüzeyi üzerinde sınırla ilişkili bozunma hızlandırıcı faktörü fırçalamak için bağlanır. F1845 fimbriyal yapısı ile Hep-2 hücrelerine adezyon yolu ile yapışarak diffüze olurlar. İki ayrı adezin genine sahip olduğu gibi *eae* genine de sahip olduğu tespit edilmiştir (Taşdemir 2009). Bağlandıktan sonra, hücre iskeleti yeniden düzenler, mikrovilusu tahrip eder. Bazı Afa/Dr DAEC suşları, aynı zamanda, insan karsinoembriyonik antijen ile ilişkili hücre adezyon molekülü reseptör ailesini, farklılaşmamış epitel hücrelerine içselleşmeye yol açan bir işlemde bağlar. İçselleştirme mekanizması mikrofilamentten bağımsız, mikrotubule bağımlı ve lipid salınımına bağlıdır (Le Bouguénec ve Servin 2006, Guignot ve ark 2009). Önemli bir etkileşim olan Dr adezin yoluyla tip IV kollajenini bağladığı da gösterilmiştir. Bu etkileşimin ishal hastalığında rolü belirsizdir (Servin 2005).

Afa/Dr DAEC suşlarının bozunma hızlandırıcı faktörü ile bağlanmasından sonra, proinflamatuvar sitokin IL-8, Toll benzeri reseptör 5 'in uyarılmasıyla üretilir, aktive olan protein kinaz, hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazlar 1 ve 2'nin, P38 ve Jun-C kinaz aktivasyonu ile sonuçlanır (Arikawa ve Nishikawa 2010). IL-8 aktivasyonundan sonra, PMN'ler, epitel boyunca göç eder ve bu da bozunma hızlandırıcı faktörün regülasyonuna neden olur (Bétis ve ark 2003). Tipik Afa/Dr DAEC'in patogenezi karakterize edilmeye başlanırken, atipik DAEC suşları için keşfedilmeyi beklemektedir. İki farklı atipik DAEC alt sınıfı vardır. Bir alt sınıf, diffüz olarak yapışan EPEC gibi başka bir *E. coli* arka planında Afa/Dr adezin

ailesinin tipik tüm adezinlerini içerir. Diğer atipik DAEC alt sınıfında bakteri bozunma hızlandırıcı faktörü bağlamaz ve yüzeyinde farklı bir adezin dizisi vardır (Servin 2005).

1.9.3. Klinik

Diffüz aderan *E. coli* suşları çocuklarda süreklilik gösteren sulu, kansız ve fekal lökositlerin olmadığı ishale neden olur. DAEC enfeksiyonu 1,5-5 yaş aralığındaki çocuklarda bir artış göstermektedir. Yetişkinlerin de asemptomatik taşıyıcı oldukları düşünülmektedir. DAEC taşıyıcısının kronik enflamatuvar bağırsak hastalıklarına yol açabileceği düşünülmektedir (Kaper ve ark 2004, Servin 2005, Le Bouguénec ve Servin 2006, Taşdemir 2009).

1.9.4. Tanı

Diffüz aderan *E. coli* suşu C1845, Afa/Dr adezinler ailesinin üyeleri ile homolog olan yüzey fimbrialarına (F1845) sahiptir. Bu nedenle, klasik hibridizasyonda ve daha sonra DAEC suşlarının tespiti için PZR tabanlı analizler, Afa/Dr adezin ailesini kodlayan operonlarda ortak genler olan *daaC*, *daaE*, *afaB* ve -C'yi saptamak için proplar ve PZR primerleri geliştirilmiştir (Bilge ve ark 1989, Nowicki ve ark 1989). DNA probları, PZR gibi analizler DAEC'nin tanısında kullanılmaktadır (Kurt ve ark 2013). Brezilya'da ishali olan bir yaştan altındaki 40 bebekte yapılan bir çalışmada ise, tespit edilen yapışan *E. coli* suşlarının %10'u doku kültüründe difere yapışmış, ancak *daaC* sondasıyla tespit edilememiştir (Scaletsky ve ark 1999). *DaaC* probu, ishale neden olan bir EAEC suşu alt kümesi ile çapraz reaksiyona girerek, DAEC'in kesin şekilde tanımlanmasını engeller (Snelling ve ark 2009). Başka bir çalışmada ise, 61 diyarejenik hastada, DAEC'in sadece %9,8'inin *daaE* ile hibritleştirilmiş olduğunu, sağlıklı bireylerin %17,6'sının *daaE* ile hibritlenen DAEC suşları içerdiğini göstermiştir. Bu çalışmalar DAEC izolatlarında virülansa karşılık gelen geniş bir prob dizisi olduğunu, patojenik DAEC izolatlarını evrensel olarak saptamak için kullanılabilecek genel paternin olmadığını göstermiştir (Lopes ve ark 2005).

1.9.5. Tedavi ve Korunma

İshalde önce enfeksiyöz ishal tanısı kesinleştirilmeli, hemodinamik durum belirlenmelidir. Tüm ishaller hastalarda olduğu gibi DAEC enfeksiyonlardada temel tedavi rehidratasyondur. Hastada dehidratasyon varsa rehidratasyon sağlanır. Laboratuvar incelemeleri yapılmalı, antimikrobiyale gerek olup olmadığına karar verilmelidir (Kurt ve ark 2013). Bağırsak hareketlerini önleyen veya hareketleri yavaşlatan medikal tedavi uygun görülmemektedir. İntestinal enfeksiyonlarda antibiyotik tedavisinin etkisi belirsizdir (Altındış 2010). Brezilyalı çocuklarda izole edilen DAEC suşlarında %70'inin çoklu antibiyotiklere %50'den fazlası ya ampicilin, sefalotin, ko-trimoksazol, streptomisin, sülfonamid ya da tetrasikline karşı ve %20'sinin ise kloramfenikol'e dirençli olduğu bulunmuştur. DAEC izolatlarının seftazidime, gentamisin, lomefloksasin, ofloksasin ve nalidiksik aside duyarlı olduğu saptanmıştır (Lopes ve ark 2005).

Korunmanın ön koşulu; güvenilir su kaynağı, kişisel hijyen, gıda üretiminde ve tüketiminde hijyenik kurallara uyulması, tuvalet kanalizasyon sistemi kontrolü, yenidoğanların anne sütü ile beslenmesi, sinek kontrolü gibi önlemlerdir. Korunmada eğitim eksikliklerinin giderilmesi, gıda ürünlerinin üretim ve tüketimi için kullanılan içme suyunun kalitesinin yüksek olması, kötü hijyen uygulamalarının ve sosyoekonomik faktörlerin iyileştirilmesi gibi önlemler ishal kontrolü için önemlidir. Hasta ve portörlerin tespit edilerek gözlenmesi ve tedavi edilmeleri halk sağlığı içerisinde etkenin varlığının kırılması açısından önemlidir. DAEC patotipi için aşı bulunmamıştır (Çaylan 2017, Canizalez-Roman ve ark 2019).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Komisyonu'nun 26.09.2018 tarih ve 2018/326 numaralı etik kurul kararı ile tez projesi olarak onaylanmış; sonrasında Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından 18202057 numarası ile desteklenmiştir.

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Acil, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları, Yenidoğan Yoğun Bakım ünitesi, Çocuk Yoğun Bakım ünitesi gibi polikliniklerine ve servislerine 1 Ocak - 31 Aralık 2019 tarihleri arasında akut ishal şikayetleri ile başvuran beş yaş altı çocuklardan alınarak, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen sulu, kanlı veya mukuslu 0-5 yaş aralığında 3064 hastanın dışkı örneği tarandı. Örneklerin çalışmaya alınma kriterleri; hastanın 0-5 yaş aralığında olması ve akut ishal şikayetleri ile hastanemize başvurmasıdır. Numunelerin çalışmaya alınmama kriterleri ise akut ishale neden olan diğer patojenler açısından dışkı örneklerinin pozitif bulunmasıdır. Bunlar; rutin testlerle rotavirus ve adenovirus pozitifliği ve parazit saptanması, dışkı kültüründe *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* türleri üremiş olmasıdır.

2.1. Kullanılan Kimyasal, Çözelti ve Malzemeler

- Eküvyon çubuğu
- Gaita kabı
- İmmersiyon yağı
- Lam
- Lamel
- Öze
- Serum fizyolojik
- Steril eppendorf tüpleri
- Steril filtreli pipet uçları (10-20-200-1000 µl)
- 96'lık pleyt
- %96-100 Etanol

2.2. Kullanılan Cihazlar

- Ayarlanabilir otomatik pipetler (Brand, Almanya)
- Biyogüvenlik kabini (Steril-VBH, Avrupa)
- Bunzen beki (Schuett phoenix, Almanya)
- Etüv (Teknosem, Türkiye)
- Gel Logic 200 görüntüleme sistemi (Kodak, ABD)
- Gerçek zamanlı Pzr cihazı (LightCycler, İsviçre)
- Hassas terazi (Acculab, Almanya)
- Jel elektroforez sistemi (Scie plas, ABD)
- Magnetik karıştırıcı (Boeco, Almanya)
- Mini satrifüj/Vorteks (Biosan, Almanya)
- Minispın santrifüj (VWR, Avrupa)
- Otoklav (Hırayama, Japonya)
- Steril su cihazı (Purelab flex elga, ABD)
- Termoblok kuru banyo (Euro lone, Çin)
- Vitek 2 kompakt otomatize sistemi (bioMerieux,, Fransa)
- Vorteks (Heidolph, Almanya)

2.3.Kullanılan Besiyerleri, Ayıraçlar, Solüsyonlar ve Kitler

- Rotavirüs ve Adenovirüs kombo hızlı test kaseti kiti
- Trikróm boyası
- Gram boyası
- Eozin Metilen Blue agar
- Hektoen Enterik agar
- Kömürlü Sefoperazon Deoksikolat agar
- Hareket agar
- İndol ayırıcı
- Mueller Hinton broth
- Simmons Sitrat agar
- Triple Sugar Iron agar
- Üre agar
- Oksidaz ayırıcı

- DNA izolasyon kiti
- Primerler
- FastStart essential DNA yeşil master karışımı
- TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) tamponu
- Agaroz jel
- Etidyum Bromür
- DNA yükleme boyası
- Marker

2.3.1. Rotavirüs ve Adenovirüs Kombo Hızlı Test Kaseti Kiti

Gaitada kalitatif rotavirüs ve adenovirüs tespiti için hızlı yatay akış kart testleridir (Juschek).

2.3.2. Trikrom boyama

Trikrom boyası: Chormotrope 3 g, Lightgreen SF 1,5 g, fosfotungustik asit, glasiyal asetik asit 5 mL, karıştırılarak 30 dakika beklendi. 500 ml dH₂O eklendi ve karıştırıldı (Chembio CB6165-02).

%90'lık asit alkol: 995,5 ml %90 etil alkole 4,5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

D'Antoni İyot solüsyonu: 1 g potasyum iyodür, 1,5 g iyot kristalleri ve 100 Ml solüsyon kırmızımsı kahverengi olana kadar karıştırıldı. Filtre kağıdından süzüldü.

2.3.3. Gram boyama

Kristal Viyole: 500 ml için; 5 g Kristal Viyole, 10 g fenol, 50 ml absollü alkol havanda karıştırıldı. 500 ml dH₂O eklenerek süzgeçten geçirildi (Himedia GRM961, Hindistan).

Lügol: 900 ml için; 3 g iyot, 6 g potasyum iyodür havanda karıştırıldı. 900 ml dH₂O eklenerek süzgeçten geçirildi.

Alkol: %95 'lik etanol kullanıma hazırды.

Sulu fuksin: 100 ml Bazik fuksin stok solüsyonu 1000 ml dH₂O eklenerek karıştırıldı ve filtre kağıdından süzöldü.

2.3.4. Eozin Metilen Blue Agar

Bileşimi: Pepton 10 g; Laktoz 10 g; Dipotasyum hidrojen fosfat 2 g; Eozin Y 0,4 g; Metilen mavisi 0,06 g; Agar 15 g (Merck 1.01.347.0500, Almanya).

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri, 37,5 g/L olacak şekilde dH₂O içinde ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi ve 45-50 °C'de soğuduğunda steril petri kutularına en az 2–3 mm kalınlığında hava kabarcığı olmayacak şekilde dökölerek alevden geçirildi. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızımsı-kahve, menekşe-kahverenginde olup, 25 °C'de pH'sı 6,8±0,2'dir.

2.3.5. Hektoen Enterik Agar

Bileşimi: Meat pepton 12 g; Maya özü 3 g; Laktoz 12 g; Sükroz 12 g; Salisin 2 g; Bile salts No.37 g; Sodyum desoxycholate 2,4 g; Sodyum klorit 5 g; Sodyum thisulfat 5 g; Ammonyum ferrik sitrat 1,5 g; Asidik fuksin 0,1 g; Bromtimol mavisi 0,065 g; Agar No 1 14 g (Himedia M467-500G, Hindistan).

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri, 76 g/L olacak şekilde dH₂O eklenerek içinde tümöyle çözölünceye kadar kaynar su banyosunda eritildi. Steril petri kutularına en az 2–3 mm kalınlığında hava kabarcığı olmayacak şekilde dökölerek alevden geçirildi. Sterilizasyon, kaynar su banyosunda besiyerini eritirken yapılmış oldu. Aşırı ısıtmadan kaçınıldı. Hazırlanmış besiyeri berrak ve mavi-yeşil renkli olup, 25 °C'de pH'sı 7,5±0,2'dir.

2.3.6. Kömürlü Sefoperazon Deoksikolat Agar

Bileşimi: Nutrient broth No. 2 25 g; Bakteriological charcoal 4 g; Kazein hidrolizatı 3 g ; Sodyum desoxycholate 1 g ; Ferrous sülfat 0,25 ; Sodyum piruvat 0,25 g; Agar 12 g. (Oxoid CM739, İngiltere) CCDA Culture Media Selective Supplement (Merck 1.00071, Almanya).

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri 22,75 g/L olacak şekilde dH₂O eklenerek, kaynatılarak eritildi. Otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav sonrası 45–50 °C 'a soğutuldu, 2 ml steril dH₂O ile çözünmüş CCDA Selective supplement ilave edildi. Karıştırılıp petri kutularına 2–3 mm kalınlığında hava kabarcığı olmayacak şekilde dökülerek alevden geçirildi. Hazırlanmış besiyeri siyah renkli olup, 2–8 °C 'da 14 gün depolandı. pH 'sı 25 °C 'da 7,4±0,2 'dir.

2.3.7. Hareket agar

Bileşimi: Bakteriological Pepton 10 g (Oxoid LP0037, İngiltere); Lab-lemco powder 3 g (Oxoid LP0029, İngiltere); NaCl 5 g (Merck 1.06404, Almanya); Agar 4 g (Oxoid LP0011, İngiltere).

Hazırlanışı: Cam şişeye pepton 10 g/L, Lab-lemco powder 3 g/L, NaCl 5 g/L ve agar 4 g/L şekilde koyuldu ve dH₂O'da ısıtılarak eritildi. Besiyeri henüz sıvı halde iken, tüplere 4'şer ml dağıtıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Besiyeri dik olarak soğumaya bırakılarak katılaşması beklendi. Agar miktarının düşük olmasına bağlı olarak yarı katı formdaydı. Hazırlanmış besiyerinin rengi berrak, sarımsı-kahvedir ve 25 °C'da pH'sı 7,3±0,2'dir.

2.3.8. İndol ayırıcı

Bileşimi: 15 ml İsoamyl alkol (Emsure 1.00979,Almanya), HCL, 1 g C₉H₁₁NO (Merck 8.03057, Almanya).

Hazırlanışı: 20 cc için; 15 ml isoamyl alkol, 5 ml HCL, 1 g C₉H₁₁NO(dimetilamino-benzaldehit) falkon tüpünde karıştırıldı ve kullanıma hazırıldı.

2.3.9. Mueller Hinton Broth

Bileşimi: Sığır eti, kurutulmuş infüzyon 300 g; Kazein hidrolizat 17,5 g; Nişasta 1,5 g (Oxoid CM0405, İngiltere).

Hazırlanışı: Cam şişeye 21 g/L olacak şekilde dehidre besiyeri dH₂O'da çözüldü. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı kahve renkli olup, 25 °C'de pH'sı $7,3 \pm 0,1$ 'dir.

2.3.10. Simmons Sitrat Agar

Bileşimi: Ammonyum dihidrojen fosfat 1 g; Potasyum dihidrojen fosfat 1 g; Sodyum klor 5 g; Sodyum sitrat 2 g; Magnezyum sülfat 0,2 g; Bromtimol mavisi 0,08 g; Agar 13 g (Merck 1.02501, Almanya).

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri, 22,5 g/L olacak şekilde dH₂O'da ısıtılarak eritildi. Besiyeri sıvı halde iken, standart 16x160 mm tüplere 7'şer ml dağıtıldı. 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Besiyeri sıvı iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılarak katılaşması beklendi. Hazırlanmış besiyeri berrak ve yeşil renkte olup, 25 °C 'da pH'sı $6,6 \pm 0,2$ 'dir.

2.3.11. Triple Sugar Iron Agar

Bileşimi: Lab-Lernco Tozu 3 g; Maya özü 3 g; Pepton 5 g; Sodyum klor 5 g; Laktoz 10 g; Sükroz 10 g; Glukoz 1 g; Ferrik sitrat 0,3 g; Sodyum thiosulfat 0,3 g; Fenol kırmızısı 0,024 g; Agar 12 g (Oxoid CM0277, İngiltere).

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri, 65 g/L olacak şekilde dH₂O'da ısıtılarak eritildi. Besiyeri sıvı halde iken, standart 16x160 mm tüplere 7'şer ml dağıtıldı. Tüpler 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Besiyeri henüz sıvı iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olacak şekilde yatırılarak besiyerinin katılaşması beklendi. Hazırlanmış besiyerinin rengi berrak kırmızıdır ve 25 °C'de pH'sı $7,4 \pm 0,2$ 'dir.

2.3.12. Üre agar

Bileşimi: Pepton from meat 1 g; D(+) Glukoz 1 g; Sodyum klor 5 g; Potasyum dihidrojen fosfat 2 g/L; Fenol kırmızısı 0,012 g; Agar 12 g (Merck 1.08487, Almanya).

Hazırlanışı: Cam şişeye 21 g/L olacak şekilde dehidre besiyeri deiyonize suda ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika süre ile sterilize edildi. 45 °C'ye kadar soğutulup, üzerine 50 ml/L hesabıyla filtre ile sterilize edilmiş %40 üre çözeltisi eklendi, karıştırılarak ve steril tüplere 7'şer ml dağıtıldı. Dip kısmı yaklaşık 2,5 cm olacak şekilde yatık agar hazırlandı. Hazırlanmış besiyerinin rengi berrak ve kırmızıdır. pH ise 25 °C'de 6,8±0,2'dir.

2.3.13. Oksidaz ayıracı

Bileşimi: Cam şişede 5,25 g N, N, N, N'-Tetrametil parafenikadiamin dihidroklorid (Sigma 87890-25G, Almanya).

Hazırlanışı: 10 cc için; 10 enjeksiyonluk su; 0,1 g N, N, N, N'-Tetrametil parafenikadiamin dihidroklorid falkon tüpüne hazırlandı.

2.3.14. DNA İzolasyon Kiti

Hazırlanışı: İlk kullanımdan önce 50 testlik Proteinaz K tüpüne, 1,1 ml dH₂O eklendi ve vorteks yapılarak iyice çözüldü. Proteinaz K' yı uzun süre kullandığımız için steril suda çözüldükten sonra bölerek -20 °C'de saklandı. Solüsyon W1 ve Solüsyon W2 konsantredir. İlk kullanımdan önce W1 solüsyonuna 38 ml, W2 solüsyonuna 19 ml %96'lık etanol eklendi (Rta, Türkiye). 15–25 °C oda ısısında kuru ortamda saklandı.

2.3.15. FastStart Essential DNA Yeşil Master Karışımı

Kullanıma hazır 2x konsantre, FastStart Essential DNA yeşil master (Roche 06402712001, İsviçre), su ve PZR sınıfı sıcak başlangıç reaksiyon karışımıdır. -20

°C'de saklandı. FastStart Essential DNA yeşil master, kalitatif ve kantitatif PZR için tek bileşenli karışımdır. FastStart Taq DNA Polimeraz ve ürün tespiti ve karakterizasyonu için DNA spesifik SYBR yeşil I boyası içerir.

2.3.16. Primerler

İzolatlarda aEPEC'in tanımlanması için *eae* geni, tEPEC'in tanımlanması için *eae* ve *pEAF* genleri, STEC'in tanımlanması için *stx*₁ ve/veya *stx*₂ genleri, EHEC'in tanımlanması için *eae*, *stx*₁ ve/veya *stx*₂ genleri, ETEC'in tanımlanması için *elt* ve/veya *est* genleri, EIEC'in tanımlanması için *ipaH* geni, EAEC'in tanımlanması için *aatA* geni ve DAEC'in tanımlanması *daaC* geni ve belirlenmesinde kullanılan primer *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aatA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx*₁ ve *stx*₂ dizileri (Macrogen, Güneykore), primer sekans (5'–3'), konsantrasyonları, baz çiftleri Tablo.1'de verildi.

Tablo 2. 1. Gerçek zamanlı multipleks PZR için kullanılan hedef gen, primer adı ve dizileri (5' – 3'), konsantrasyon, baz çiftleri (Souza ve ark 2013).

Hedef gen	Primer adı ve dizisi (5' – 3')	Konsantrasyon (µM)	Bant büyüklüğü (bp)
<i>eaeA</i>	EAE-S for: ACT GGA CTT CTT ATT RCC GTT CTA TG EAE-B2 rev: CCT AAA CGG GTA TTA TCA CCA GA	0,2	189
<i>pEAF</i>	EP-1 for: GTT CTT GGC GAA CAG GCT TGT C EP-2 rev: TTA AGC CAG CTA CCA TCC ACC C	0,2	107
<i>est</i>	STa-F:ATT TTT MTT TCT GTA TTR TCT T STa-R:CAC CCG GTA CAR GCA GGA TT	0,4	190
<i>elt</i>	LTf: GGC GAC AGA TTA TAC CGT GC LTr: CGG TCT CTA TAT TCC CTG TT	0,2	450
<i>ipaH</i>	IpaH1:GTT CCT TGA CCG CCT TTC CGA TAC CGT C IpaH2:GCC GGT CAG CCA CCC TCT GAG AGT AC	0,2	620
<i>stx</i> ₁	stxA1 598:AGT CGT ACG GGG ATG CAG ATA AAT stxA1 1015:CCG GAC ACA TAG AAG GAA ACT CAT	0,1	418
<i>stx</i> ₂	Stx2f:GGC ACT GTC TGA AAC TGC CC Stx2r:TCG CCA GTT ATC TGA CAT TCT G	0,1	246
<i>aatA</i>	EA-1 for: AGG TTT GAT ATT GAT GTC CTT GAG GA EA-2 rev: TCA GCT AAT AAT GTA TAG AAA TCC GCT GTT	0,1	152
<i>daaC</i>	DAA-F: ATT ACG TCA TCC GGG AAG CAC ACA DAA-R: GCT TGC TCA TAA AGC CGC AGA CAA	0,1	150

2.3.17.TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) Tamponu

0,5xTBE Tamponun Hazırlanışı: Agaroz jel elektroforezi için 0,5xTBE tampon kullanıldı. Aşağıdakileri 2 L'lik bir şişede karıştırıldı: 10,8 g Trizma base (Sigma, Almanya), 5,5 g Borik asit (Merck, Almanya), 0,744 g EDTA (Merck, Almanya) ve dH₂O ile 2 litreye tamamlanır. Şişede tamamen çözülene kadar içine manyetik balık atarak manyetik bir karıştırıcıya yerleştirildi. Homojen olduktan sonra 0,5xTBE tampon çözeltisi kullanıma hazırıldı.

2.3.18. Agaroz Jel

Amplifiye edilmiş PZR ürünlerinin görülebilmesi için jel elektroforez yapıldı. 2 g agar (Sigma, Almanya) tartılarak cam şişeye koyuldu. 200 ml'ye 0,5xTBE (pH 8,3) ile tamamlandı. Mikrodalga fırında 350 °C de yaklaşık 3-5 dakikada tamamen çözünmesi sağlandı. Kaynatılan karışım, 40-50 °C'ye kadar soğutuldu. Jel içerisine 8 µl etidyum bromür eklendi ve çözeltiye dağılması sağlandı. Jel kalıbının aparat ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan tarakları yerleştirildi. Halen sıvı halde olan karışım, jel kalıbının içerisine döküldü. Trayin çatlamaması için çözelti 15-20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı.

2.3.19. Etidyum Bromür

Elektroforez işleminden sonra görüntüleme için jelin boyanmasında etidyum bromür, %1' lik agar jelin içerisine eklendi.

2.3.20. DNA Yükleme boyası

6*DNA yükleme boyası (Thermo, Amerika) kullanıldı.

2.3.21. Marker

İşaretleyici olarak 100 bp'lik DNA ladder (Thermo, Amerika) kullanıldı.

2.4. Standart Suşlar

İzolasyon ve identifikasyon çalışmalarının aşamalarında kullanılan EHEC, EPEC, ETEC, DAEC, EAEC kontrol suşları Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı/ Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvarından temin edildi.

2.5. Örneklerin Seçilmesi

Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, akut ishalleri beş yaş altı 312 çocuğun dışkı örneğinde rutin testlerle *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, rotavirus ve adenovirus pozitifliği ve parazit saptanmayan EMB agarda baskın *E.coli* üremesi olan kültürler çalışmaya alındı.

Dışkının makroskopisine yönelik, kıvamı (sulu, yarı katı, katı), miktarı, mukus ve kan varlığı, pürülan olup olmadığı değerlendirildi (Bandreas ve ark 2004).

Paraziter akut gastroenterit etyolojisine yönelik, *Giardia intestinalis*, *Blastocystis hominis* ve şüpheli amip, kist, trofozoit varlığı direkt mikroskopi ve trikrom boyama yöntemiyle değerlendirildi. Direkt mikroskopide, lam üzerine serum fizyolojik veya lugol 1 damla damlatıldı ve dışkı örneği emülsiye edildi ve üzerine lamel kapatılarak, yaş preparatlar hazırlandı ve mikroskopda (x40) objektifle her alan incelendi. Trikrom boyama yönteminde, dışkı lamın üzerine yayılarak kurumadan Schaudinn fiksatifine daldırılarak en az 30 dakika bekletilmiştir. Lamlar, %70'lik etil alkolde 5 dakika, D' antoni iyot solüsyonunda ise 3-5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, iki ayrı şalede ki %70'lik alkolde her birinde 2-5 dakika tutulmuştur. Tespit edilmiş lamlar trikrom boyada 5-8 dakika bekletilmiştir. Fazla boyası süzülen lamlar 2-3 saniyede sırasıyla %90'lık asit-alkolde, %100'lük alkolde çalkalanmıştır. Lamlar ikinci ve üçüncü %100'lük alkolde 2-5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra iki ayrı ksilen veya toluen içeren şalede 2-5 dakika bekletilmiştir. İmersiyon yağı damlatılarak x100 objektifle incelenmiştir. İyi tespit edilmiş ve boyanmış dışkı örneklerindeki trofozit ve kistlerin sitoplazmaları morumsu, mavi, yeşil renkte iken genelde zemin yeşil renktedir. *Entamoeba coli* kistleri genelde diğer amiplerden daha koyu mor renkte gözlenmiştir (Girginkardeşler ve Üz 2011).

Viral etyolojiye yönelik de rotavirüs ve adenovirüs antijen testi immuno kromotografik yöntemle rotavirüs ve adenovirüs kombo hızlı test kaseti kiti ile çalışıldı. Dışkı örnekleri pipet ile aspire edilerek ekstraksiyon tamponunu içeren numune toplama tüpüne 2 damla (yaklaşık 50 µL) aktarıldı. Aplikatör tekrar tüpe yerleştirilerek kapak kapatıldı ve vortekslandı. Seyreltme tüpünün ucu kırılarak karta damlatıldı. Sonuçlar 5-15 dakika içinde alındı. Rotavirüs ve adenovirüs sonuçları ayrı çizgilerle gösterilmişti. Biri renkli çizgi kontrol çizgisi bölgesinde (C) ve diğer belirgin renkli çizgi test çizgisi bölgesinde (T) olması pozitif olarak değerlendirildi. Test çizgisi bölgesindeki rengin yoğunluğu, numunedeki konsantrasyona bağlı olarak değişti. Bir renkli çizgi kontrol çizgisi bölgesinde belirdi. Test çizgisi bölgesinde çizgi görünmüyorsa negatif olarak değerlendirildi. Kontrol çizgisi görünmüyorsa sonuç geçersiz olarak değerlendirildi (Wood ve ark 1989, Thomas ve ark 1994).

Salmonella ve *Shigella* türlerine yönelik kültür değerlendirmesi, *Salmonella* ve *Shigella* kültürü için dışkı örnekleri HE besiyerine ekildi. 24 saat 35-37 °C'de inkübasyondan sonra laktoz negatif ve/veya H₂S pozitif koloniler konvansiyonel yöntemler (hareket, indol, simmons sitrat, tsi, üreaz ve oksidaz testleri) ve VITEK 2 otomatize sistemi ile tanımlandı (Aygün 2015).

Campylobacter türlerine yönelik kültür değerlendirmesi, dışkı örneklerinden *Campylobacter* izolasyonu amacıyla, seçici besiyeri (CCDA Culture Media Selective Supplement) kullanıldı. Kültürler 42°C'de mikroaerofilik ortamda (Anaerocult C, Merck, Almanya) 72-96 saat inkübe edildi. Modifiye CCDA'da gri-beyaz renkte, metalik röfle veren koloniler seçilerek, Gram boyama ve oksidaz testi uygulandı. Gram boyamada Gram negatif, martı kanadı, spiral şekilli, S ve virgül görünümünde olan, faz-kontrast mikroskobunda hareketli görünen ve oksidaz testleri pozitif olan bakterilerin tümü termofilik *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı (Aygün 2015).

Dışkı örnekleri 60 dakika içinde EMB agara tek koloni düşürme tekniği ile ekim yapıldıktan sonra 35-37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda laktozu kullanamayan bakteriler renksiz koloniler (laktoz negatif) laktozu kullanabilen *E. coli* için tipik koloniler ise yeşilimsi ve parlak metalik renkte koloniler (laktoz pozitif) olarak değerlendirildi (Padhye ve Doyle 1992).

2.6. Gram boyama

Ürettiğimiz kültürlerden, şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı. Mikroskopta 100 lük objektifle lamın üzerine 1 damla immersiyon yağı damlatılarak incelendi. Mor renkte görülen mikroorganizmalar Gram pozitif, pembe-kırmızı renkte görülenler ise Gram negatif olarak değerlendirildi (York ve ark 2007).

2.7. *E.coli* İzolasyonunda Fenotipik İdentifikasyon

E. coli (laktoz + veya laktoz - dahil) şüpheli koloniler kültürden seçilerek, biyokimyasal testler yapıldı. Dışkı örneklerinden izole edilen *E.coli* suşları konvansiyonel yöntemlerle (hareket, indol, simmons sitrat, tsi, üreaz ve oksidaz testleri) tanımlamada güçlük çekilen kolonilerde VITEK-2 kompakt otomatize cihazı ve VITEK-2 GN tanımlama kartı kullanıldı.

2.7.1. Hareket testi

E.coli suşların tanımlanmasında tüp besiyerine ekildikten sonra 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Tüp besiyerinde ekim çizgisinden uzaklaşarak, yaygın üreme olursa veya besiyerinde bulanıklık görülürse mikroorganizma hareketli olarak, tüp besiyerinde temiz/berrak bir görünüm olursa veya sadece inokülasyon çizgisinde sınırlı üreme görülürse hareketsiz olarak değerlendirildi (York ve ark 2007, Aygün 2015).

2.7.2. İndol Testi

%1'lik triptofanın sudaki çözeltisinden hazırlanan Tryptone Broth'a *E.coli* şüpheli koloniden öze ile birkaç koloni ekildi. 35-37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Koliform bakteriler triptofanaz enzimi üretilip üretememe yetenekleri ile birbirinden ayrılırlar. Triptofanaz enzimine sahip mikroorganizmalar, triptofan amino asidinden indol, amonyak ve pirüvik asit oluşturur. Nitrat ayırıcından, 1'er ml damlatılarak brothun üst yüzeyinde kırmızı veya kiremit kırmızısı renkli halka olması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (Bilgehan 2009, Aygün 2015).

2.7.3. Simmons Sitrat Testi

Simon sitrat yatık agara EMB agardaki şüpheli koloniden öze yardımı ile ekim yapıldı. 35-37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. Test tüpünün rengi nötral pH değerinde yeşildir. Ancak pH 7,6’nın üzerinde yoğun koliform üremesine bağlı olarak amonyum tuzlarından alkali üretimi sonucu besiyerindeki bromtimol mavisini indikatörü koyu prusya mavisine dönüştür. Renk değişikliğinin oluşmaması negatif olarak değerlendirildi. *E. coli*’ de sitrat negatiftir (Aygün 2015).

2.7.4. Triple Sugar Iron Testi

İzole edilmiş koloninin tepesine öze ile dokunularak besiyerinin ortasından tüpün dibine batırarak ve ardından agar yüzeyini çizerek inoküle edildi. Tüp 35-37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. Ortamın reaksiyonunu incelendi. Glikoza etki edenler dipte sarı, yatık alan kırmızı renk oluştururken laktoza etki edenler tüm alanlarda sarı renk oluşturur. Agar içinde kabarcıklar ya da çatlaklar gaz oluşumunu göstermektedir. H₂S oluşumu dipte siyah renkle anlaşılır. *E. coli* laktoza etkili, gaz pozitif, H₂S negatiftir (Aygün 2015).

2.7.5. Üreaz testi

Mikroorganizmaların üreaz enziminin varlığını saptamak amacıyla yapılır. *E.coli* suşların tanımlanmasında tüp besiyerine öze yardımı ile ekildikten sonra 35-37 °C’de 1-5 gün inkübe edildi. Kültürlerde kırmızı rengin oluşması (amonyak oluşumu nedeniyle pH’nın yükselmesi sonu indikatörün renginin ortaya çıkması) pozitif reaksiyon olarak ve hiçbir değişikliğin olmaması da negatif olarak değerlendirildi (Bilgehan 2009).

2.7.6. Oksidaz Testi

İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların oksidaz aktiviteleri, oksidaz ayırıcı ile değerlendirildi. İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların kolonilerden öze ile birkaç tanesi alınarak filtre kağıdına yayıldı ve oksidaz ayırıcı damlatıldı. 15-30 saniye

içinde pembe mor bir renk alması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (York ve ark 2007, Bilgehan 2009).

2.8. Moleküler analizler

Polimeraz zincir reaksiyon için DNA izolasyonu, taze olarak üretilmiş kolonilerden RTA Bakteriden Genomik DNA izolasyon kiti protokolüne göre yapıldı. Ekstraksiyon *E.coli* DNA örnekleri steril eppendorf tüplere aktarılıp moleküler analizler gerçekleştirilinceye kadar -40°C’de saklandı. Her çalışmada yeterli negatif ve ekstraksiyon kontrolleri kullanıldı. Aşağıdaki prosedür uygulandı.

1. Steril eppendorflar sıralanıp hasta listesine göre numaralandırıldı ve 200 µl BL solüsyonu pipetlendi.
2. Öze ile katı kültürden değişik alanlardan 10-20 *E.coli* kolonileri alındı ve BL solüsyonu içinde vorteks kullanılarak iyice çözüldü. Hücre peletinin tamamen çözüldüğünden ve herhangi bir hücre topağının kalmadığından emin olundu.
3. 20 µl Proteinaz K çözeltisi eklendi ve vortekslenerek karıştırıldı.
4. 56°C’te 1 saat bekletildi. İnkübasyon sırasında örnekler her 10 dakikada bir vorteks ile karıştırıldı.
5. 250 µl solüsyon B eklendi ve 20 saniye boyunca vurum-vorteks yapılarak karıştırıldı.
6. Kısa santrifüjden yapıldıktan sonra her 3 dakikada bir karıştırılarak 65°C’te 15 dakika inkübe edildi.
7. 200 µl %96’lık etanol eklenip, 20 saniye vurum-vorteks yapılarak karıştırıldı.
8. Kısa santrifüj yapılarak karışım, toplama tüpünün içine yerleştirilmiş spin kolona aktarıldı.
9. 10 000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Sıvı içeren alttaki tüp atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
10. 700 µl Solüsyon W1 eklendi. 10 000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
11. 700 µl Solüsyon W2 eklendi. 10 000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon tekrar aynı tüpe yerleştirildi.
12. 14 000 x rpm’de 30 saniye santrifüj yapıldı.
13. Spin kolon, steril 1,5 ml’lik bir mikrosantrifüj tüpe transfer edildi.

14. 200 µl 70°C'ye ısıtılmış elüsyon solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
15. 14 000 x rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Spin kolon atıldı, mikrosantrifüj tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA bulundu.

2.8.1. Gerçek zamanlı multipleks PZR

Multipleks PZR Tamara ve ark (2013) tarafından önerilen şekilde yapıldı. 96 örnek kapasiteli LightCycler 96 (Roche, Almanya) termal döngü cihazında gerçekleştirildi. Her 40 µl reaksiyon karışımı, 20 µl Fast essential DNA yeşil master karışımı (Roche, İsviçre) ve 2 µl DNA vardır. Tablo 2'de ısı döngü ve süre diyagramı gösterilmiştir. Win 7 + Win XP işletim sistemleri kullanılarak amplifikasyon eğrileri absolute quantification modülü ile erime eğrileri TM calling ile bitiş noktası genotiplemesi HRM*Qual Detection* analiz edildi. Sonuç tablosu .txt dosyası ile aktarıldı (sürüm 1.1).

Tablo 2. 2: Gerçek zamanlı multipleks PZR için ısı döngü ve süre diyagramı.

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
İnkübasyon öncesi	1	95 °C	600 s
Üç adımda amplifikasyon	40	95 °C	10 s
		60 °C	15 s
		97 °C	20 s
Erime	1	95 °C	10 s
		60 °C	60 s
		97 °C	1 s
Soğutma	1	37 °C	30 s

2.8.2. Agaroz Jel elektroforezi

Amplikonların Elektroforez Tankında Jele Yüklenmesi: Soğutulan jelden tarak ve kalıplar çıkarılarak, elektroforez tankına yerleştirildi. Tank jelin üstünü kaplayacak kadar 0,5xTBE eklendi. Multipleks PZR ürününden 4 µl alınıp, 4 µl DNA yükleme boyası ile karıştırıldı. Jeldeki kuyucuğa pipetlendi. Bir kuyucuğa da marker 100 bp'lik DNA ladder 4 µl pipetlendi.

Jelde Yürütme: Hazırlanmış olan jele, örnekler ve markerın yüklemesi yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, negatif ve pozitif elektrotlar pozisyonlarına bağlandıktan sonra 120V 50mA 6W akımda 210 dakika yürütüldü.

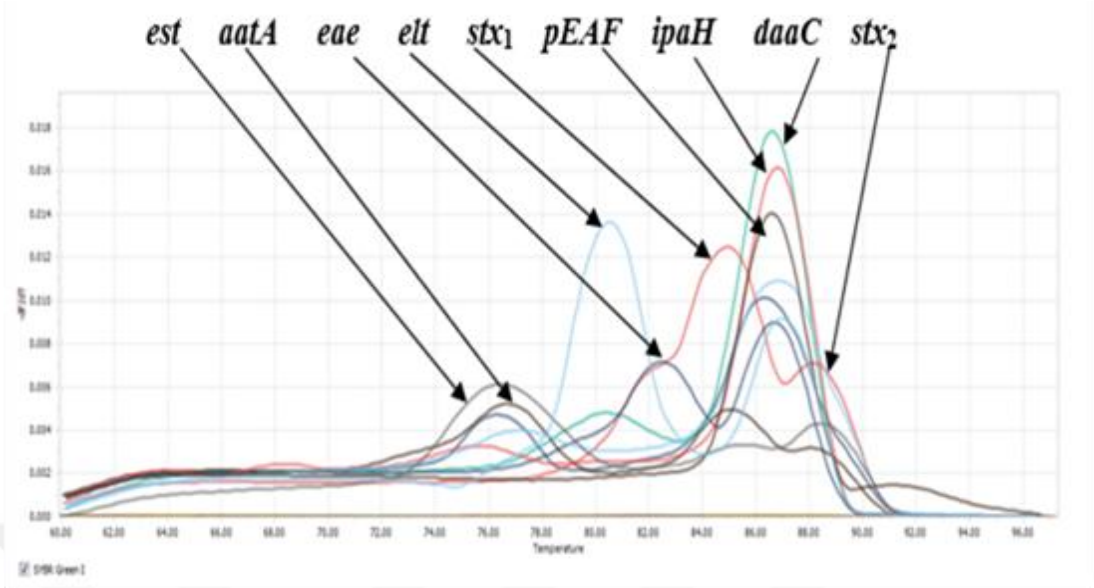
Görüntüleme ve Değerlendirme: Elektroforez işleminin ardından jel, tanktan alınarak transilluminatör cihazına (Gel Logic 200 görüntüleme sistemi, Kodak) yerleştirildi. UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, bant görüntüleri değerlendirildi. Pozitif DNA örneğinin karşısına denk gelen ve moleküler standart ile uyumlu baz çiftine sahip olan örneklerin geni taşıdığı tespit edildi.

2.9. Sonuçların Değerlendirilmesi

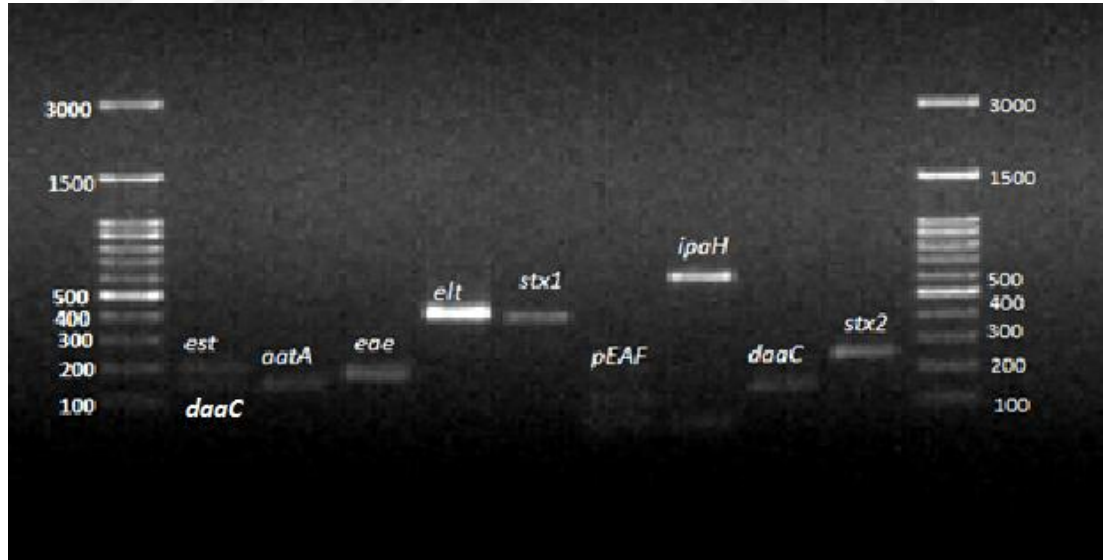
Akut ishalli 312 çocuğun dışkı örneğinde üreyen *E. coli* izolatları konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 compact otomatize sistemi ile tanımlandı. DNA izolasyonu, ticari bir kitle yapıldı. *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aatA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx₁* ve *stx₂* primerleri gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile çalışıldı. Erime analizi, tüm hedef genler için dokuz farklı tepe noktası gösterdi (Şekil 1). *eae* + *pEAF* genlerinin saptanması tipik EPEC (tEPEC), sadece *eae* geninin saptanması atipik EPEC (aEPEC), *stx₁* ve/veya *stx₂* genlerinin saptanması STEC, *eae* + *stx₁* ve/veya *stx₂* genlerinin saptanması EHEC, *elt* ve/veya *est* genlerinin saptanması ETEC, *ipaH* geninin saptanması EIEC, *aatA* geninin saptanması EAEC ve *daaC* geninin saptanması DAEC olarak kabul edildi. Gerçek zamanlı multipleks PZR (Şekil 2. 1.), monopleks PZR ve Jel elektroforez (Şekil 2. 2.) ile doğrulandı.

2.9.1. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada verilerin istatistiksel analizini yapmak için SPSS-Statistics-21 (Windows 32 bit) yazılımı kullanılarak ki-kare testi ve gerektiğinde Fisher kesin testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 2. 1. Gerçek zamanlı multipleks PZR’da DEC’in virülans genlerinin erime eğrileri; *est* için $76,4 \pm 0,2$ °C, *aatA* için $75,7 \pm 0,4$ °C, *elt* için $80 \pm 0,5$ °C, *stx*₁ için $84,5 \pm 0,5$ °C, *eae* için 82 ± 1 °C, *pEAF* için $86 \pm 0,5$ °C *ipaH* için $87 \pm 0,2$ °C, *daaC* için $87,5 \pm 0,2$ °C ve *stx*₂ için $88,5 \pm 0,5$ °C (Çalışmamızdan).



Şekil 2. 2. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin multipleks PZR ile saptanan virülans genlerinin jel görüntüsü. Genlerin beklenen boyutları (bp): *stx*₁ 418 bp, *stx*₂ 246 bp, *eae* 189 bp *pEAF* 107 bp, *elt* 450 bp, *ipaH* 620 bp, *daaC* 150 bp, *aatA* 152 bp, *est* 190 bp (Çalışmamızdan).

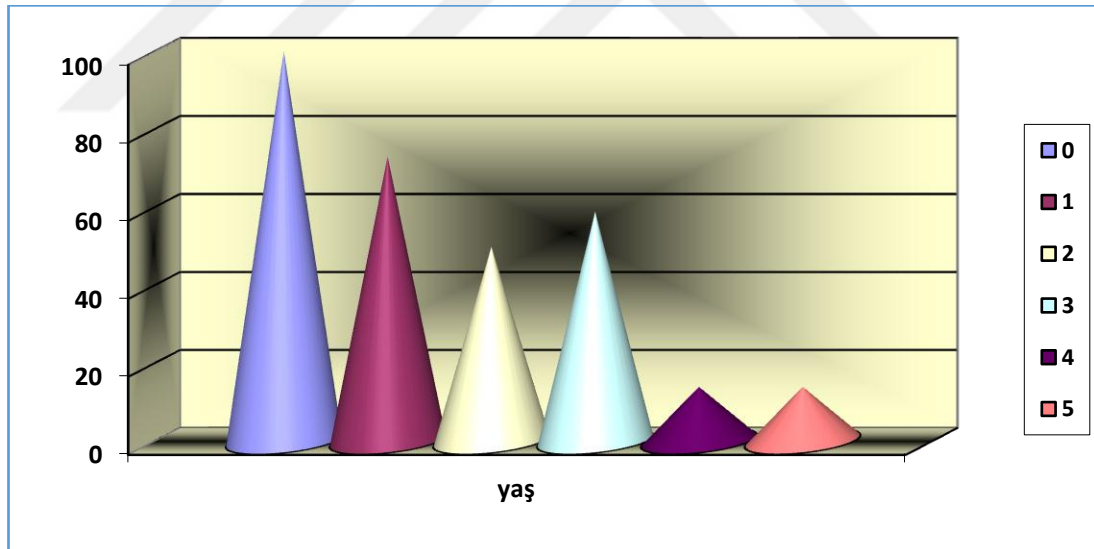
3. BULGULAR

Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen beş yaş altı çocuklardan alınan 3064 dışkı örneği taranmış ve 312 çocuğun dışkısında üreyen *E. coli* izolatının 310'u patotiplendirilmiştir.

Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde, %55,9'unun 24 aydan küçük olduğu saptanmış, hastaların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,000$). Hastaların yaş grupları dağılımı **Tablo 3. 1. ve Şekil 3. 1.**'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 1. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş	0	1	2	3	4	5	Toplam	P değeri
Sayı (Yüzde)	100 (32,4)	73 (23,5)	50 (16,1)	59 (19,0)	14 (4,5)	14 (4,5)	310 (100,0)	0,000

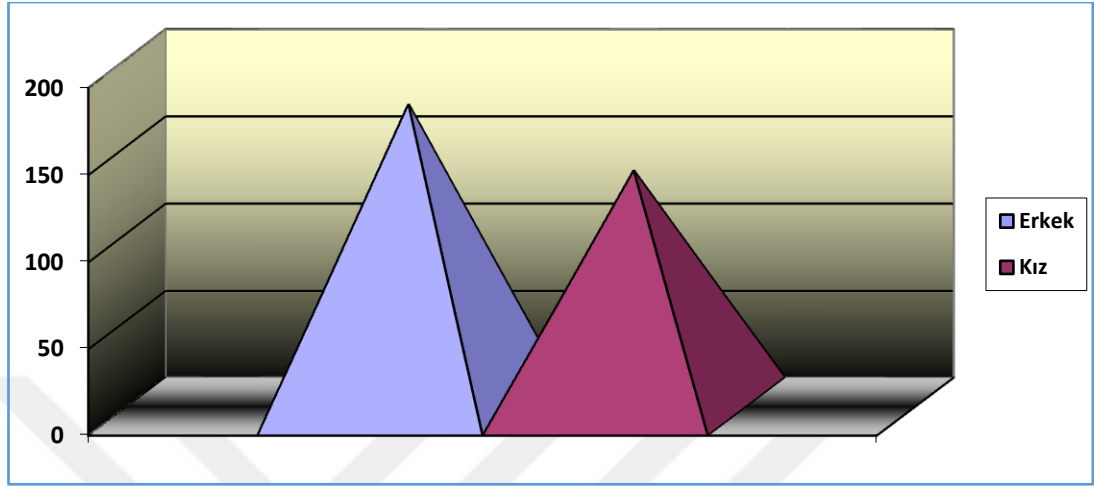


Şekil 3. 1. Hastaların yaş dağılım grafiği.

Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı incelendiğinde erkek sayısı kıza göre daha yüksek bulunmuş, cinsiyetler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,031$) (**Tablo 3. 2 ve Şekil 3. 2.**).

Tablo 3. 2. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı.

Cinsiyet	Erkek	Kız	Toplam	P değeri
Sayı (Yüzde)	174 (56,1)	136 (43,9)	310 (100,0)	0,031

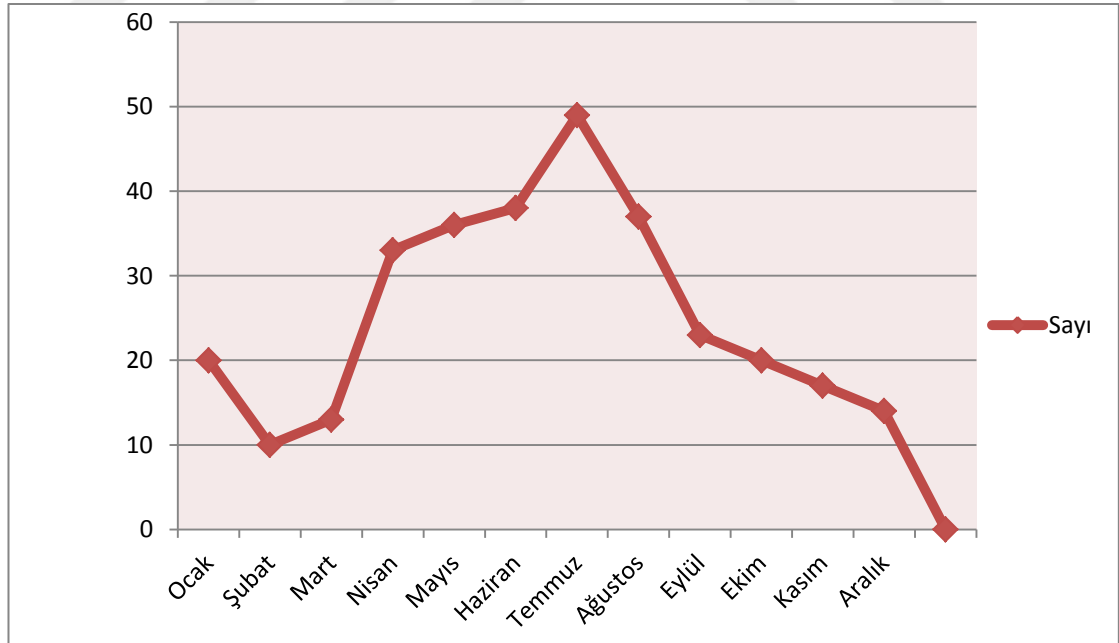


Şekil 3. 2. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı grafiği.

Diyarejenik *E.coli* türleri yaz mevsiminde (%40,0) ve ilkbaharda (%26,4) diğer mevsimlere göre [sonbahar (%19,4) ve kış (%14,2)] daha yüksek oranda saptanmıştır. Vakaların aylara göre dağılımı incelendiğinde en yüksek oran Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında (%40,0), en düşük oran ise Aralık, Ocak, Şubat aylarında (%14,2) izlenmiştir (**Tablo 3.3, Şekil 3.3.**). Aylar ile vaka sayısı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

Tablo 3. 3. Diyarejenik *E.coli*'nin mevsimlere ve aylara göre dağılımı.

Mevsim	Ay	Erkek sayı	Kız sayı	Toplam sayı	Toplam yüzde
İlkbahar	Mart	8	5	13	4,2
	Nisan	18	15	33	10,6
	Mayıs	24	12	36	11,6
Yaz	Haziran	16	22	38	12,3
	Temmuz	30	19	49	15,8
	Ağustos	19	18	37	11,9
Sonbahar	Eylül	15	8	23	7,4
	Ekim	9	11	20	6,5
	Kasım	11	6	17	5,5
Kış	Aralık	6	8	14	4,5
	Ocak	9	11	20	6,5
	Şubat	9	1	10	3,2
Toplam		174	136	310	100,0



Şekil 3. 3. Diyarejenik *E.coli* vakalarının aylara göre dağılım grafiği.

Akut ishallerli çocuklarda saptanan DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde DAEC 281 (%90,6), EPEC 187 (%60,4), EAEC 159 (%51,3), EIEC

43 (%13,9), EHEC/STEC 33 (%10,6) ve ETEC dört (%1,3) hastada tespit edilmiştir. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin aylara göre dağılımı **Tablo 3. 4. ve Şekil 3. 4.**'de gösterilmiştir.

Diffüz Aderan *E. coli* yılın her ayında yüksek oranda saptanmış ve aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,288$).

Atipik Enteropatojenik *E. coli* Temmuz (%20,1), Ağustos (%22,1), Eylül (%12,1) ve Ekim (%13,4) aylarında diğer aylara göre daha yüksek saptanmıştır. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$). tEPEC Nisan (%2,6), Mayıs (%2,6), Haziran (%63,2) ve Temmuz (%31,6) aylarında tespit edilmiş diğer aylarda ise saptanmamıştır. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

Enteroagregatif *E. coli* Temmuz'da 28 (%17,6), Ağustos'ta 29 (%18,2), Eylül'de 21 (%13,2) ve Ekim'de 16 (%10,1) hastada tespit edilmiştir. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

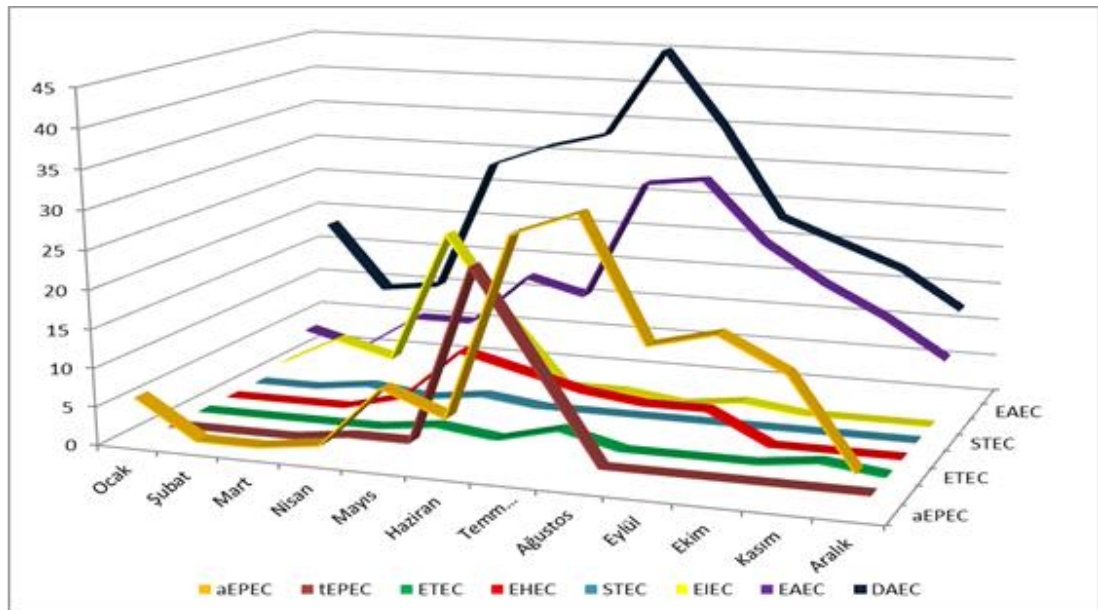
Enteroinvazif *E. coli* en yüksek Nisan (%48,8) ve Mayıs (%23,3) aylarında daha düşük oranlarda Ocak (%2,3), Şubat (%11,6), Mart (%7,0), Haziran ve Temmuz (%2,3) aylarında saptanmış, diğer aylarda ise tespit edilememiştir. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

Enterohemorajik *E. coli* en yüksek Mayıs (%29,0) ve Haziran (%22,6) aylarında daha az oranlarda Nisan (%6,5), Temmuz (%16,1), Ağustos (%12,9) ve Eylül (%12,9) aylarında bulunmuş, diğer aylarda ise tespit edilememiştir. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,011$). STEC Mart'ta bir (%50,0) ve Mayıs'ta bir (%50,0) vakada tespit edilmiş yılın diğer aylarında saptanmamıştır. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,216$).

Enterotoksijenik *E. coli* Mayıs'ta bir (%0,25), Temmuz'da iki (%0,50) ve Kasım'da bir (%0,25) hastada tespit edilmiş diğer aylarda ise saptanmamıştır. Aylar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,607$).

Tablo 3. 4. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin aylara göre dağılımı.

Patotip Aylar	DAEC Sayı (yüzde)	aEPEC Sayı (yüzde)	tEPEC Sayı (yüzde)	EAEC Sayı (yüzde)	EIEC Sayı (yüzde)	EHEC Sayı (yüzde)	STEC Sayı (yüzde)	ETEC Sayı (yüzde)
Ocak	18(6,4)	6(4,0)	0(0,0)	4(2,5)	1 (2,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)
Şubat	9(3,2)	1(0,7)	0(0,0)	2(1,3)	5(11,6)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)
Mart	10(3,6)	1(0,7)	0(0,0)	7(4,4)	3 (7,0)	0(0,0)	1(50,0)	0(0,0)
Nisan	28(10,0)	2(1,3)	1(2,6)	7(4,4)	21(48,8)	2(6,5)	0(0,0)	0(0,0)
Mayıs	31(11,0)	10(6,7)	1(2,6)	14(8,8)	10(23,3)	9(29,0)	1(50,0)	1(0,25)
Haziran	33(11,7)	7(4,7)	24(63,2)	12(7,5)	1(2,3)	7(22,6)	0(0,0)	0(0,0)
Temmuz	45(16,0)	30(20,1)	12(31,6)	28(17,6)	1(2,3)	5(16,1)	0(0,0)	2(0,50)
Ağustos	35(12,5)	33(22,1)	0(0,0)	29(18,2)	0(0,0)	4(12,9)	0(0,0)	0(0,0)
Eylül	23(8,2)	18(12,1)	0(0,0)	21(13,2)	1(2,3)	4(12,9)	0(0,0)	0(0,0)
Ekim	20(7,1)	20(13,4)	0(0,0)	16(10,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,25)
Kasım	17(6,0)	16(10,7)	0(0,0)	12(7,5)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(0)
Aralık	12(4,3)	5(3,4)	0(0,0)	7(4,4)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)
Toplam	281(90,6)	149(48,1)	38(12,3)	159(51,3)	43(13,9)	31(10)	2(0,6)	4(1,3)
p değeri	0,288	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011	0,216	0,607



Diyarejenik *E. coli*'nin patotiplerinin yaşlara göre dağılımı incelendiğinde, hastaların yaşları ile DEC enfeksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). DEC patotiplerinin yaş içinde dağılım analizi ve p değerleri **Tablo 3. 5.**'da gösterilmiştir.

Patotip	0 Sayı (yüzde)	1 Sayı (yüzde)	2 Sayı (yüzde)	3 Sayı (yüzde)	4 Sayı (yüzde)	5 Sayı (yüzde)	Toplam Sayı (yüzde)	P değeri
aEPEC	47 (31,5)	37 (24,8)	21 (14,1)	28 (18,8)	9 (6,0)	7 (4,7)	149 (100,0)	0,778
tEPEC	12 (31,6)	10 (26,3)	6 (15,8)	7 (2,3)	0 (0,0)	3 (7,9)	38 (100,0)	0,668
ETEC	1 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (75,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (100,0)	0,121
EHEC	11 (35,5)	8 (25,8)	5 (16,1)	6 (19,4)	1 (3,2)	0 (0,0)	31 (100,0)	0,867
STEC	2 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0,517
EIEC	12 (27,9)	11 (25,6)	5 (11,6)	11 (25,6)	2 (4,7)	2 (4,7)	43 (100,0)	0,630
EAEC	48 (30,2)	38 (23,9)	23 (14,5)	34 (21,4)	9 (5,7)	7 (4,4)	159 (100,0)	0,713
DAEC	91 (32,4)	65 (23,1)	46 (16,4)	53 (18,9)	13 (4,2)	13 (4,2)	281 (100,0)	0,990

Diyarejenik *E. coli*'nin patotiplerinin cinsiyetlere göre dağılımı incelendiğinde, hastaların cinsiyeti ile DEC enfeksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). DEC patotiplerinin cinsiyetlere göre dağılım analizi ve p değerleri **Tablo 3. 6.**'da gösterilmiştir.

Tablo 3. 6. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin cinsiyetlere göre dağılımı.

Patotip	Kız Sayı(yüzde)	Erkek Sayı (yüzde)	Toplam Sayı (yüzde)	P değeri
aEPEC	65 (43,6)	84 (56,4)	149 (100,0)	1,000
tEPEC	21 (55,3)	17 (44,7)	38 (100,0)	0,163
ETEC	1 (25,0)	3 (75,0)	4 (100,0)	0,634
EHEC	14 (45,2)	17 (54,8)	31 (100,0)	1,000
STEC	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	0,506
EIEC	17 (39,5)	26 (60,5)	43 (100,0)	0,620
EAEC	75 (47,2)	84 (52,8)	159 (100,0)	0,253
DAEC	124 (44,1)	157 (55,9)	281 (100,0)	0,776

Toplam 312 *E.coli* izolatının 56'sinde tek, 254'ünde miks patotip saptanırken 2 izolat tiplendirilemedi. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin tekli ve miks olarak mevsimlere göre **Tablo 3. 7.**'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 7. Diyarejenik *E.coli* patotiplerinin (tekli ve miks olarak) mevsimlere göre dağılımı.

Patotip	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış	Toplam
ETEC	1				1
tEPEC		1			1
EAEC	3			4	7
DAEC	16	8		23	47
DAEC+EPEC	6	36	10	6	58
DAEC+EHEC	5	7	1		13
DAEC+EIEC	21			3	24
DAEC+EAEC	9				9
DAEC+ETEC		1			1
EAEC+aEPEC	1	2			3
EAEC+EIEC	4			1	5
EAEC+EHEC/STEC	2	1			3
EAEC+EIEC +aEPEC	1				1
EAEC+tEPEC+EHEC		6			6
DAEC+aEPEC+EIEC	3				3
DAEC+EPEC+EAEC	2	57	44	5	108
DAEC+EHEC+EIEC	2				2
DAEC+tEPEC+EHEC		1			1
DAEC+EHEC/STEC+EAEC	2	1	3		6
DAEC+EAEC+EIEC	1		1	1	3
DAEC+EAEC+ETEC			1		1
DAEC+EHEC+EIEC+EAEC	1				1
DAEC+EPEC+EIEC+EAEC		1		1	2
DAEC+EPEC+EIEC+ETEC		1			1
TOPLAM	82	124	60	44	310

4. TARTIŞMA

Patojenik *E. coli*'ye bağlı gastrointestinal enfeksiyonlar, dünya çapında özellikle Güney Asya ve Sahra Altı Afrika ülkelerinden gelen çocuklarda ortaya çıkan salgınların ve sporadik vakaların önemli nedenlerindendir (Walker ve ark 2013, Foster ve ark 2015). DEC, özellikle gelişmekte olan ülkelerde çocuklara yönelik bir halk sağlığı sorunudur (Canizalez-Roman ve ark 2016).

Dünyadaki DEC enfeksiyonunun sıklığındaki farklar; çalışma popülasyonları, coğrafi bölge ve sosyoekonomik sınıflar, yaş dağılımları, tanıda kullanılan yöntemlerden kaynaklanır (Ochoa ve ark 2008). Muni ve ark (2014) tarafından Hindistan'ın Bihar şehrinde beş yaş altı ishalleri olan çocuklardan alınan 120 dışkı örneği taranmış 110'unda (%91,6) DEC patotipleri (EPEC, EAEC, ETEC ve DAEC) tespit edilmiştir. İshalleri olan çocuklardan saptanan DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde EPEC 54(%49,1), DAEC 38(%34,5), EAEC 12(%10,9) ve ETEC 6(%5,5) hastada saptanmıştır. İsveç'te Tobias ve ark (2015) tarafından beş yaş altı ishalleri olan 307 hastanın dışkı örneği taranmış 59'unda (%19,2) DEC patotipleri belirlenmiş, EPEC 28(%47,5), EAEC 27(%46), ETEC 3(%5) ve EHEC 1(%1,5) hastada tespit edilmiştir. Canizalez-Roman ve ark (2016) tarafından Meksika'da yapılan çalışmada akut ishalleri olan 0-99 yaş grubu hastalardan alınan 1037 dışkı örneğinin 242'sinde (%23,3) DEC patotipleri (EPEC, STEC, ETEC, EIEC, EAEC ve DAEC) saptanmıştır. DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde EAEC 126(%52,1), EPEC 53(%21,9), ETEC 43(%17,8), DAEC 15(%6,2), STEC 3(%1,2) ve EIEC 2(%0,8) hastada tespit edilmiştir. Mandal ve ark (2017) tarafından Bihar'daki beş yaş altı ishalleri olan çocuklardan alınan 633 dışkı örneği taranmış 191'inde (%30,2) DEC patotipleri [EAEC 132(%69,1), ETEC 20 (%10,5) EPEC 16(%8,4), EHEC 5(%2,6), EIEC 3(%1,6) ve mikس enfeksiyon 15(%7,8)] tespit edilmiştir. Burkina Faso'da Konaté ve ark (2017) tarafından beş yaş altı akut ishalleri olan 315 çocuktan 192 dışkı örneği toplanmış, 419 *E. coli* suşu izole edilmiştir. 419 *E. coli* suşunun 31'inde (%7,4) DEC patotipleri [EAEC 15(%48,5), EPEC 8(%25,8), EIEC 4(%12,9), EHEC 3(%9,6) ve ETEC 1(%3,2)] bulunmuştur. Singh ve ark (2017) tarafından yapılan çalışmada Hindistan'da akut ishalleri olan beş yaş altı 120 hastanın dışkı örneğinin 106'sında (%88,3) DEC patotipleri (EPEC, EHEC, ETEC, EIEC ve

EAEC) belirlenmiştir. DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde EPEC 87 (%72,5) EAEC 76(%63,33), ETEC 55(%45,83), EHEC 11(%9,16) ve EIEC 3 (%1,6) hastada saptanmıştır. Yu ve ark (2018) Çin’de 684 dışkı örneğinin 54’ünde (%7,9) DEC patotipleri tespit edilmiştir. EPEC 27(%50,0), EAEC 11(%20,9), ETEC 8(%14,8), EHEC 2(%3,7) EIEC 2(%3,7) ve koenfeksiyon 4(%7,4) hastada tespit edilmiştir. Ülkemizde Tutak ve Tuğrul (2015) tarafından yapılan araştırmada ishal şikayeti olan farklı yaş gruplarındaki 1318 hastadan 254 *E.coli* tanımlanmış, lam aglütinasyon testi ile 29’unda DEC patotipleri (EPEC, ETEC ve EIEC) tespit edilmiştir. Serolojik yöntemle pozitif sonuç veren örnekler, PZR yöntemi ile araştırılmış 29 *E.coli*’den üçünde (%10,3) diyarejenik suşlara ait virülans genleri bulunmuştur. Çalışmamızda, Konya/Türkiye’de akut ishalleri beş yaş altı 3064 hastanın dışkı örneği taranmış, izole edilen 312 (%10,2) *E.coli*’nin 310’unda(%99,4) gerçek zamanlı multipleks PZR ile DEC patotipleri belirlenmiştir. DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde DAEC 281(%90,6), EPEC 187(%60,4), EAEC 159(%51,3), EIEC 43(%13,9), EHEC/STEC 33(%10,6) ve ETEC 4(%1,3) hastada tespit edilmiştir.

Diyarejenik *E.coli* enfeksiyonu vakalarının yaş küçüldükçe arttığı ve küçük yaştakilerin enfeksiyona daha yatkın olduğunu görülmüştür. Bu durum yaşa bağlı bağışıklığa bağlanmıştır (Leimbach ve ark 2013, Pérez-Losada ve ark 2013). Genel olarak, EPEC gelişmekte olan ülkede iki yaşın altındaki çocukları enfekte eden en önemli patojenlerden biri olduğu tespit edilmiştir (Qadri ve ark 2005, Organization 2012). Bu görüşü destekleyen çalışmalardan, Zhou ve ark (2018) EPEC enfeksiyon vakalarının %66,7’si 24 aylıktan küçük çocuklardan olduğunu bulmuşlardır. ETEC enfeksiyon vakalarının yaklaşık 280 milyonunun 0-4 yaş arasındaki çocuklarda olduğunu tahmin edilmiştir (Wennerås ve Erling 2004). Beş yaşından sonra muhtemelen önceki enfeksiyonlardan kazanılmış bağışıklıktan dolayı ETEC enfeksiyon oranı düşmüştür (Steinsland ve ark 2003). Gupta ve ark (2008) gelişmekte olan ülkelerdeki çalışmaları gözden geçirmişler, çocuklardaki ishallerin %13’ünün nedeninin ETEC olduğunu, her yıl beş yaşın altındaki 325 000 çocuğun ETEC ile ilişkili ishal nedeniyle öldüğünü tespit etmişlerdir (Wennerås ve Erling 2004). Muni ve ark (2014) Bihar’da beş yaş altı ishali saptanan çocuklarda DEC izolatlarının yaşlara göre dağılımını incelemiş, %39,5’inin 0-12 aylık, %18’inin 13-24 aylık, % 36’sının 25-36 aylık, %7,4’ünün 37-48 aylık ve %40,8’inin 49-60 aylık

olduğunu saptamış ve DEC izolatlarının 0-12 ve 49-60 aylık çocuklarda daha sık olduğunu bulmuşlardır. Patzi-vargas ve ark (2015) Meksika'nın Yukatan şehrinde beş yaş altı ishali saptanan 831 çocukta DEC izolatlarının yaşlara göre sıklığını incelemiş, %23'ünün 6 aydan küçük, %30'unun 6-12 aylık, %27'sinin 13-24 aylık ve %31'inin 24 aydan büyük olduğu belirlenmiştir. EAEC patotipi, 6-24 aylık çocuklar arasında altı aydan küçük çocuklarda daha sık görülmüş ($p=0,008$) ve 13-24 aylık çocukların diğer yaş gruplarındaki çocuklara göre daha az miks DEC enfeksiyonu olduğu tespit edilmiştir ($p=0,012$). 6 aylıktan küçük çocuklarda tEPEC suşları ile daha sık enfekte olma eğilimi göstermiştir ($p=0,052$). Canizalez-Roman ve ark (2016) Meksika'da 0-99 yaş grubu akut ishali saptanan DEC izolatlarının yaşlara göre dağılımını incelemiş, %26'sının 0-2 yaş, %8,3'ünün 3-5 yaş, %10,4'ünün 6-10 yaş, %10'unun 11-20 yaş, %10,6'sının 21-30 yaş, %19,8'inin 31-50 yaş ve %13,9'unun 51-99 yaş olduğu belirlenmiş ve DEC suşlarının ≤ 2 yaş çocuklarda daha sık olduğu tespit edilmiştir. Bihar'da Mandal ve ark (2017) beş yaş altı ishali saptanan çocuklarda DEC izolatlarının yaşlara göre dağılımını incelemiş, %74,6'sının 0-1 yaş, %17,3'ünün 1-3 yaş ve %8,2'sinin 3-5 yaş olduğu belirlenmiş ve DEC izolatlarının ≤ 1 yaş çocuklarda daha sık olduğu bulunmuş yaş ilerledikçe daha az saptanmıştır. Singh ve ark (2017) Hindistan'da beş yaş altı akut ishali saptanan çocuklarda DEC izolatlarının yaşlara göre dağılımını incelemiş, %42,2'sinin 0-1 yaş, %25,5'inin 1-3 yaş ve %33,3'ünün 3-5 yaş olduğu belirlenmiş ve diğer çalışmalara benzer DEC suşlarının ≤ 1 yaş çocuklarda daha sık olduğu bulunmuştur. Çin'de Zhou ve ark (2018) beş yaş altı ishali saptanan çocuklarda DEC izolatlarının yaşlara göre sıklığını incelemiş, %17,5'inin 0-11 aylık, %6,3'ünün 12-23 aylık, %5,0'inin 24-35 aylık, %5,2'sinin 36-47 aylık ve %1,8'inin 48-59 aylık olduğu belirlenmiş ve DEC izolatlarının 0-11 aylık çocuklarda daha yaygın olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Ayrıca en baskın patotip olan EPEC, 24 aylıktan küçük çocuklarda (%66,7) daha yaygın görülme eğilimi göstermiştir. Çocuğun yaşı küçüldükçe DEC enfeksiyonuna daha yatkın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda, 310 Diyarejenik *E. coli*'nin patotiplerinin yaş aralığı dağılımı incelendiğinde %32,4'ünün 0 yaş, %23,5'inin 1 yaş, %16,1'inin 2 yaş %19,0'unun 3 yaş, %4,5'inin 4 yaş ve %4,5'inin 5 yaş olduğu belirlenmiştir. DEC suşları ≤ 1 yaş çocuklarda daha sık olduğu bulunmuş muhtelemen yaş ilerledikçe bağışıklığa bağlı daha az saptanmıştır.

Diyarejenik *E.coli* enfeksiyonu vakalarında cinsiyet göre dağılımı incelendiğinde beş yaş altı erkek hastaların kız hastalara göre enfeksiyona daha yatkın olduğu görülmüş bazı çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Mandal ve ark 2017). Günümüzde daha çok beş yaş altı çocuklarda EHEC patotipine bağlı HÜS tablosu gözlenir iken, Almanya'daki 2011 salgınında olguların büyük kısmı erişkinlerde ve yaklaşık %70'inin kadın hastalar olduğu gözlemlenmiştir (WHO 2011). Singh ve ark (2017) Hindistan'da akut ishalli beş yaş altı 120 çocuğun 73'ünün (%60,8) erkek ve 47'sinin (%39,2) kız olduğu belirlenmiştir. Nyanga ve ark (2017) Kenya'daki Nairobi şehrinde ishalli beş yaş altı 354 çocuğun 184'ünün (%52) erkek ve 170'inin (%48) kız olduğu saptanmıştır. Hastaların çalışmalarda demografik özelliklerinde cinsiyet dağılımı verilsede istatistiksel olarak incelenmemiştir. Mandal ve ark (2017) DEC'in cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, 348'inin (%54,9) erkek ve 285'inin (%45,1) kız olduğu bulunmuş ve DEC olguları ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda DEC enfeksiyonu ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmasa da çalışmalarda erkek oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmamızda, 310 diyarejenik *E. coli*'nin cinsiyetlere göre dağılımı incelendiğinde 174'ünün (%56,1) erkek ve 136'sının (%43,9) kız çocuğu olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p=0,031$). Başka bir ifade ile hastaların erkek olması DEC enfeksiyonuna yatkın olduğu bulgusuna ulaşılmıştır.

Diyarejenik *E.coli* enfeksiyonu vakalarının mevsimsel değişimleri incelendiğinde, özellikle ilkbahar/yaz döneminde sık görüldüğü tespit edilmiş, sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörlerle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır. (Levine ve ark 1993, Afset ve ark 2003a, 2004b, Behiry ve ark 2011). Afset ve ark (2003), Norveçli çocuklarda EPEC izolatlarının %47,7'sini Temmuz ve Eylül ayları arasında saptamıştır. Patzi-Vargas ve ark (2015) Meksika'nın Yukatan şehrinde dört yıl boyunca beş yaş altı ishali saptanan 831 çocukta DEC (%28) izolatlarının mevsimsel dağılımı incelendiğinde, en sık ilkbaharda 81 DAEC'in 31'ini (%38) saptarken, yaz aylarında ise en sık olgu 21 ETEC'in 11'ini (%52), 56 EAEC'in 20'sini (%36) ve 46 EPEC'in 16'sını (%35) tespit etmişler. Çin'de Zhou ve ark (2018) DEC (54) olgularının mevsimsel dağılımı incelendiğinde, yaz aylarında (%33,4), ilkbaharda (%14,8), kışta (%12,9) ve sonbaharda (%38,9) takip edilmiş, en sık DEC izolasyon oranları yazda ve sonbaharda görülmüş, mevsimsel farklılıklar

göstermiştir ($p=0,002$). Ayrıca en baskın patotip olan EPEC, yaz/sonbahar döneminde (%81,5) daha sık görülme eğilimi göstermiştir. Çalışmamızda DEC olgularının mevsimsel dağılımı incelendiğinde Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında %40,0 oranında saptanmış ve bunu Mart, Nisan, Mayıs ayları (%26,4) takip etmiştir. Eylül, Ekim, Kasım (%19,4) ve Aralık, Ocak, Şubat (%14,2) aylarında ise daha düşük oranlar izlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları DEC'in daha çok yaz ve ilkbahar mevsiminde görüldüğünü, sıcak ve nemin DEC enfeksiyonunun gelişimini etkilediği bulgusuna ulaşılmış ve diğer çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Diffüz Aderan *E.coli* suşları heterojen bir klon grubu oluşturur, çünkü bağırsak enfeksiyonları olan hastalardan izole edilen bazıları hastalığa neden olan ajanlar olduğu kabul edilirken, diğerleri sağlıklı insanların normal dışkılarından izole edilmiştir. Klinik örneklerden elde edilen klonların virülansının genetik temeli henüz aydınlatılamamıştır. DEC patotip sıklığı incelendiğinde altıncı patotip, ishal ile ilişkili DAEC olarak bilinir (Gómez-Duarte ve ark 2010, Ochoa ve ark 2010). Gomes ve ark (1998) tarafından Brezilya'da yapılan çalışmada, 1801 *E. coli* suşundan %23'ünün DAEC olduğunu saptamışlar, ayrıca ishale neden olan yaygın bir patotip olduğunu tespit etmişlerdir. Ochoa ve ark (2010) yaptıkları çalışmada 95 DEC patotipi arasında, 30 (%31,6) DAEC tespit etmiştir. Muni ve ark (2014) Bihar'ın Katihar/ Kosi bölgesinde beş yaş altı ishalleri 120 çocuğun 110'nunda (%91,6) DEC patotipleri tespit etmiş, bunun %34,5'inin DAEC olduğunu saptamıştır. Canizalez-Roman ve ark (2016) tarafından yapılan çalışmada Meksika'da akut ishalleri 0-99 yaş grubu hastalarda muhtemelen yaş grubundan kaynaklanan düşük oranda (%2) DAEC patotipi olduğu bildirilmiştir. Singh ve ark (2017) Hindistan'da akut ishalleri beş yaş altı 120 hastanın 106'sında (%88,33) DEC patotipleri saptamışlar fakat DAEC izole edememişlerdir. Çalışmamızda en sık saptanan patotip %90,6 oranı ile DAEC'dir. Bu bulgular DAEC'in bölgemizde yaygın bir patotip olduğunu göstermiştir. Ancak ülkemizde DAEC enfeksiyonlarının sıklığı hakkında veri bulunmadığı için DAEC epidemiyolojisi belirsizliğini korumaktadır.

Enteropatojenik *E.coli* dünya da ishalleri neden olmaya ve iki yaş altındaki çocuklar için ciddi bir risk oluşturmaya devam etmektedir. EPEC, ilk olarak Neter ve ark (1955) tarafından gelişmekte olan birçok ülkede en sık görülen DEC patotipi olarak tanımlanmıştır. EPEC gelişmekte olan ülkelerde yaşayan çocuklarda, özellikle

yenidoğanlarda, anne sütü ile beslenmeyen çocuklarda ve hastane kreşlerinde salgınlara neden olduğu saptanmıştır (Tünger ve ark 2005, Çaylan 2017). EPEC suşlarının etken olduğu ishallerle ilişkili ciddi hastalık sonuçları ortaya çıkmıştır. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (2013) EPEC enfeksiyonu nedeni ile dört hastanın hastaneye yattığını bildirmiştir. Muni ve ark (2014) tarafından Bihar'ın Katihar/Kosi bölgesinde beş yaş altı 120 ishalleri 110'unda (%91,6) DEC tespit edilmiş, en sık patotipin (%49,1) EPEC olduğu belirlenmiştir. EPEC'in geliştirmekte olan ülkelerde çocukları enfekte eden en önemli patotiplerden biri olduğu görülmüştür. İsveç'te Tobias ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada beş yaş altı ishalleri hastalarda 59 (%19,2) DEC saptanmış, izolatların yaklaşık yarısının (%47,5) EPEC patotipi olduğu bulunmuştur. EPEC'in çocukları enfekte etmesinin başlıca nedenleri; beş yaş altı çocukların kreşte bulunması, kısmen anne sütü ile beslenmemesi, hijyenik kurallara uyulmaması gibi birçok neden olduğu görülmüştür. Çin'de Wang ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada ishal hastalarından oluşan üç grup [Henan'dan beş yaş altı 755 çocuk, Pekin'den beş yaş altı 1422 çocuk ve 18 yaş üstü 1047 yetişkin] çalışmaya dahil edilmiştir. EPEC'in çocuklarda en yaygın (Pekin'de %4,5 Henan Eyaleti'de %3,6) yetişkinlerde ise ikinci en yaygın (%2,1) etken olduğu görülmüştür. Canizalez-Roman ve ark (2016) Meksika'da akut ishalleri 0-99 yaş grubu hastalarda ikinci sık saptanan patotipin EPEC (%21,9) olduğunu bildirmiştir. Singh ve ark (2017) Hindistan'da akut ishalleri beş yaş altı 120 hastada en baskın patotipin EPEC (%72,5) olduğu tespit edilmiştir. Çin'de akut ishalleri beş yaş altı 684 hastanın yarısının EPEC olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark 2018). Yurt dışında yapılan çalışmalarda beş yaş altı hastalarda EPEC en sık etken olarak bulunmuştur. Ülkemizdeki araştırmalara bakıldığında beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda EPEC'in görülme sıklığı hakkında yeterli veri yoktur. Bozçal ve ark (2016) tarafından yapılan bir araştırmada İzmir'de 62'si çocuk, 40'ı yetişkin toplam 102 hastanın dışkı örneğinden 146 *E.coli* saptanmıştır. DEC patotiplerinden EPEC ve STEC bakılmış, üçünün EPEC (%2,05) suşu olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda saptanan DEC izolatlarında %60,4 oranında EPEC tespit edilmiştir. Bu bulgular bölgemizde EPEC'in ikinci en sık patotip olduğunu göstermiştir.

Uzun yıllar boyunca aEPEC'in geliştirmekte olan ülkelerde nadir olmakla birlikte sanayileşmiş ülkelerde baskın olduğu düşünülmüştür (Trabulsi ve ark 2002,

Afset ve ark 2004). Ancak, son veriler aEPEC enfeksiyonlarının gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde tEPEC ishallerinden daha çok görüldüğünü göstermiştir (Ochoa ve ark 2008, Hernandez ve ark 2009). 1998-1999'da Brezilya'da çocuklardan toplanan EPEC izolatlarının %38'inin, 2001-2002 yılları arasında ise %92'sinin aEPEC olduğu belirlenmiştir (Scaletsky ve ark 2010). Tobias ve ark (2015) 59 DEC izolatının yaklaşık yarısında saptadığı EPEC (%47,5) suşlarının çoğunun aEPEC (%46) olduğunu bildirmiştir. Çin'de 27 EPEC (%50) patotipinin %77,8'inin aEPEC, %22,2'sinin ise tEPEC olduğu tespit edilmiştir (Zhou ve ark 2018). İzmir'de Bozçal ve ark (2016) ishali 102 hastada tespit edilen EPEC (%2,05) suşlarının tamamının aEPEC olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda DEC izolatlarında %60,4 oranında EPEC saptanmış, bunun %79,7'sinin aEPEC, %20,3'sinin tEPEC olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları diğer çalışmalarla uyumlu olarak aEPEC patotipinin tEPEC patotipine göre daha yaygın olduğunu göstermiştir.

Enteroagregatif *E.coli* suşları hem gelişmekte olan hem de sanayileşmiş ülkelerde turist ishali ile ilişkilendirilmiştir. EAEC, akut ve kronik ishalden sorumlu bir patojendir, bu patotip çocuklarda yetersiz beslenme ve gelişme geriliğine neden olabilir (Cohen ve ark 2005, O'Ryan ve ark 2005). Geçmişte DEC suşlarının sürveyansının sınırlı olması nedeniyle dünyada EAEC patotipi ile ilgili verileri de sınırlıdır. Maryland ve Connecticut'taki iki büyük hastanenin kliniklerinde EAEC'in ishalde en yaygın bakteriyel patojen olduğu tespit edilmiştir (Nataro ve ark 2006). Muni ve ark (2014) tarafından Bihar'ın Katihar/Kosi bölgesinde yapılan çalışmada beş yaş altı 120 ishali çocuktan 110'unda (%91,6) DEC tespit edilmiş, ikinci en sık DEC patotipinin (%10,9) EAEC olduğu tespit edilmiştir. Tobias ve ark (2015) İsveç'de beş yaş altı ishali 307 hastada ikinci en yaygın DEC patotipinin (%46) EAEC olduğunu belirlemiştir. Çin'de Wang ve ark (2015) üç grup ishali hastada [Henan'dan beş yaş altı 755 çocuk, Pekin'den beş yaş altı 1422 çocuk ve 18 yaş üstü 1047 yetişkin] EAEC'in (Pekin'de %3,52 ve %1,72, Henan Eyaletin'de %2,91) en sık ikinci patotip olduğu belirlemiştir. Canizalez-Roman ve ark (2016) Meksika'da akut ishali 0-99 yaş grubu hastalarda en sık saptanan patotipin EAEC (%52,1) olduğunu bildirmiştir. Hindistan'da akut ishali beş yaş altı 120 hastada ikinci en baskın patotipin EAEC (%63,33) olduğu tespit edilmiştir (Singh ve ark 2017). Bihar'da Mandal ve ark (2017) ve Burkina Faso'da Konaté ve ark (2017) tarafından beş yaş altı ishali çocuklarda en yaygın saptanan patotipin EAEC (%69,1- %48,5)

olduğu bulunmuştur. Zhou ve ark (2018) Çin'de akut ishalli beş yaş altı 684 hastada ikinci en sık saptanan patotipin EAEC (%20,9) olduğunu bildirmiştir. Ülkemizde 0-5 yaş aralığı akut ishalli çocuklarda EAEC enfeksiyonlarının epidemiyolojisi hakkında rapor bulunmamaktadır. Çalışmamızda beş yaş altı akut ishalli çocuklarda DEC patotiplerinde EAEC (%51,3) en sık saptanan patotipler arasında üçüncü sıradadır. Çalışmamızın sonuçları diğer ülkelerdeki sıklıkla uyumlu olmakla beraber bölgemizde EAEC en yaygın patotipler arasında görülmüştür.

Enteroinvazif *E.coli* gelişmekte olan ülkelerde endemik gelişmiş ülkelerde ise sporadik enfeksiyonlara neden olur. ABD'de EIEC enfeksiyonunun neden olduğu üç büyük ishal salgını bildirilmiştir (Nataro ve Kaper 1998). Kanada, Avrupa veya Avustralya gibi ülkelerin hükümet izleme programlarında hiçbir EIEC enfeksiyonu bildirilmemiştir (Program 2010, WHO 2011, Group 2012). 2003'den bu yana Orta ve Güney Amerika, Afrika ve Asya'daki çalışmalarda birkaç EIEC salgını bildirilmiştir (Gassama-Sow ve ark 2004, Ratchtrachenchai ve ark 2004, Vieira ve ark 2007, Okeke 2009, Pérez ve ark 2010, Vieira ve ark 2010). Çin'de Wang ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada üç grup ishalli hastada EIEC'in (Pekin'de çocuklarda %0,35, yetişkinlerde %0,48 ve Henan'da çocuklarda %0,3) en sık üçüncü patotip olduğu görülmüştür. Canizalez-Roman ve ark (2016) Meksika'da akut ishalli 0-99 yaş grubu hastalardan alınan 1037 dışkı örneğinde en az bulunan patotipin EIEC (%0,82) olduğu tespit etmiş, yaygınlığının düşük olduğunu belirlemiştir. Mandal ve ark (2017) Hindistan'da beş yaş altı ishalli 633 çocukta en az saptanan patotipin EIEC (%1,6) olduğunu bildirmiştir. Burkina Faso'da Konaté ve ark (2017) beş yaş altı akut ishalli 315 çocukta EIEC'in (%12,9) üçüncü sırada olduğunu ve sık görülen patotipler arasında yer aldığını belirtmişlerdir. Zhou ve ark (2018) Çin'de akut ishalli beş yaş altı 684 hastada en az tespit edilen patotipin (%3,7) EIEC olduğunu göstermişlerdir. Ülkemizde Tutak ve Tuğrul (2015) tarafından yapılan araştırmada ishal şikayeti olan farklı yaş gruplarındaki 1318 hastadan 254 *E.coli* tanımlanmış, lam aglütinasyon testi ile serogruplandırılan 11 EIEC (%5,4) patotipinde moleküler yöntemle EIEC virülans geni tespit edilememiştir. Türkiye'deki 0-5 yaş arası çocuklarda EIEC epidemiyolojisi hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda beş yaş altı akut ishalli çocuklarda DEC patotiplerinde EIEC (%13,9) saptanan etkenler arasında dördüncü sıradadır. Çalışmamızda EIEC ülkemizde

yapılan araştırmalardaki sıklıktan yüksek çıkmasına rağmen bölgemizdeki ishallerde yaygınlığının düşük olduğu bulunmuştur.

Enterohemorajik *E. coli*'nin prevelansı özellikle gelişmiş ülkelerde, beş yaş altındaki çocuklarda ve yaz mevsiminde sıktır. Salgınlarda sorumlu tutulan başlıca besinler sığır eti ve sığır etinden yapılmış ürünler ile pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleridir (Serter ve ark 2000). ABD hastalık koruma ve kontrol merkezi raporlarına göre EHEC 1982-2002 yılları arasında ABD'de 49 eyalette toplam 8 598 vakadan oluşan 350 salgın yapmıştır. Olguların %17,4 hastaneye yatış, %4,1 HS vakası ve %0,5 ölümle sonuçlandığı belirtilmiştir (Rangel ve ark 2005). 1 Mayıs-9 Haziran 2011 tarihlerinde Almanya'da 2 229 EHEC enfeksiyonu rapor edilmiştir. Almanya'daki bu salgına bağlı olarak 13 farklı Avrupa ülkesinde 63, tüm dünyada toplam 3 092 EHEC vakası rapor edilmiştir (WHO 2011). Hindistan'da Mandal ve ark (2017) beş yaş altı 633 ishalleri çocukta en az saptanan DEC patotipleri arasında EHEC'i (%2,6) bildirmiştir. Tobias ve ark (2015) İsveç'de beş yaş altı 307 ishalleri hastada en az (%1,5) EHEC patotipi belirlemiştir. Burkina Faso'da Konat ve ark (2017) Hindistan'da Singh ve ark (2017) beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda sıklığı en az bulunan DEC patotipleri arasında EHEC'in (%9,6) olduğunu belirlemişlerdir. Ülkemizde Hascelik ve ark (1991) ve arkadaşları (1991) Ankara'da 677 ishalleri ocukta, Erensoy ve Tokbaş (1992), İzmir'de 300 ishalleri ve 100 sağlıklı kişide, (Ekşi ve ark 2007) Gaziantep'de beş yaş altı 91 akut ishalleri ocuk ve 60 sağlıklı kişide yapmış oldukları araştırmalarda EHEC varlığını araştırmışlar, ancak tespit edememişlerdir. Ülkemizde Arslantürk ve ark (1997) 566 hastanın birinde (%0,18) Kaleli ve ark 1999) 681 ishalleri hastanın birinde (%0,1), Taş (2004) 200 ishalleri hastanın ikisinde (%1,0), Aydoğan ve ark (2001) 100 ishalleri hastanın nde (%3) EHEC serotipini saptamışlardır. Çalışmamızda beş yaş altı akut ishalleri ocuklarda DEC patotipleri arasında EHEC (%10) nc sırada saptanmıştır. Çalışmamızın sonuçları yurt dışı çalışmalara benzer ancak ülkemizde yapılan diğer araştırmalardan yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin uzun süredir ülkemizde bu konuda çalışma yapılmamasına bağlı olacağı düşünülmektedir.

Shiga toksin üreten *E. coli*, beş yaşın altındaki çocuklarda dünya çapında en yüksek HS insidansına sahiptir ve gelişmekte olan ülkelerde yaygındır (Rivero ve ark 2010). İskoçya'da et veya süt ürünleri veya çevresel bulaşla ilişkili STEC patotipi

salgınları yaklaşık %40'ının gıda kaynaklı, % 54'ünün çevresel temas ve %6'sının her iki bulaşma yolu ile olduğu gösterilmiştir. ABD'de gıda ile ilişkili ishallerin %82'sinin etkeni STEC patotipi olduğu tespit edilmiştir (Strachan ve ark 2006, Scallan ve ark 2011). Hale ve ark (2012) tarafından yapılan araştırmada ABD'de hayvan veya hayvanın atıkları ile temasdan sonra insanlarda STEC enfeksiyonunun görülme oranı %8 olduğu tespit edilmiştir. Colorado'da Brown ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada çocuk bakımevinde çalışan 20 kişi ve 48 aydan küçük 55 çocukta STEC (%60) patotipi belirlenmiş, en büyük salgın olduğu tespit edilmiştir. Çin'de Wang ve ark (2015) üç grup ishalleri hastada STEC'in (Pekin'de 1422 çocukta %0,35 ve 1047 yetişkinde %0,1, Henan Eyaletinde 755 çocukta %0,26) Meksika'da Canizalez-Roman ve ark (2016) akut ishalleri 0-99 yaş grubu hastalarda %1,23 oranında saptamışlar ve DEC enfeksiyonları arasında en düşük ikinci patotip olduğunu belirlemişlerdir. Ülkemizde araştırmalara bakıldığında İzmir'de Bozcal ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ishalleri 102 hastada en sık (%3,42) STEC patotipi tespit edilmiştir. Çalışmamızda, beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda DEC patotipleri arasında en az STEC (%0,6) patotipi saptanmış ve bölgemizdeki ishallerde yaygınlığının düşük olduğu belirlenmiştir.

Enterotoksijenik *E. coli*'nin prevalansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle iki yaş altı çocuklarda ve turistlerde bakteriyel ishalin en önemli sebebinin oluşturmaktadır. ETEC enfeksiyonunun morbidite ve mortalite oranları yüksektir (Patrick 2009). Shah ve ark (2009) Latin Amerika ve Afrika'daki turistlerde ETEC'in hala en sık saptanan etken olduğunu ve ishallerin yaklaşık %30'unu oluşturduğunu saptamıştır. Taneja ve ark (2003) Hindistan'da üçüncü basamak bir hastanede yenidoğan yoğun bakım ünitesinde akut ishalleri 16 yenidoğan bebekte muhtemelen asemptomatik bir taşıyıcı tarafından hazırlanan kontamine süt nedeniyle ETEC (%87,5) patotipi tespit etmiştir. Beatty ve ark (2004) 1996-2003 yılları arasında toplam 2 865 hastadan oluşan ortalama 16 ETEC salgını bildirmiştir. ETEC gelişmekte olan ülkelerin çoğunda endemik olmasına rağmen, Bangladeş'te sel felaketlerinde ETEC (%18) patotipi salgınlara yol açmıştır (Qadri ve ark 2005). Muni ve ark (2014) Bihar'ın Katihar/Kosi bölgesinde beş yaş altı ishalleri 120 çocuğun 110'nunda (%91,6) DEC patotipleri tespit etmiş, bunun %5,5'inin ETEC olduğunu saptamıştır. İsveç'te Tobias ve ark (2015) beş yaş altı ishalleri hastalarda 307 dışkı örneğinde 59 (%19,2) DEC saptanmış, olgularda düşük oranda (%1,5) ETEC olduğu

belirlenmiştir. Çin’de ETEC’in çocuklarda en az (Pekin’de %0,35, Henan Eyaleti’de %0,26) yetişkinlerde ise en sık (%6,21) etken olduğu görülmüştür (Wang ve ark 2015). Canizalez-Roman ve ark (2016) Meksika’da akut ishalleri 0-99 yaş grubu hastalarda patotipler arasında üçüncü sırada ETEC (%17,8) olduğunu bildirmiştir. Hindistan’da beş yaş altı ishalleri çocuklarda yapılan çalışmalarda ETEC %10,5-%45,8 oranlarında ve en sık ikinci ve üçüncü etken olarak bulunmuştur (Mandal ve ark 2017). Burkina Faso’da beş yaş altı akut ishalleri 315 çocukta en düşük oranda ETEC (%3,2) tespit edilmiştir (Konaté ve ark 2017). Zhou ve ark (2018) Çin’de akut ishalleri beş yaş altı 684 hastada ETEC’in üçüncü (%14,8) sırada yer aldığını bildirmişlerdir. Ülkemizde Tutak ve Tuğrul (2015) tarafından yapılan çalışmada ishal şikayeti olan farklı yaş gruplarındaki 1318 hastadan 254 *E.coli* tanımlanmış, lam aglütinasyon testi ile serogruplandırılan 29 DEC izolatının birinde moleküler yöntemle ETEC virülans geni tespit edilmiştir. Çalışmamızda, beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda ETEC %1,3 oranında ve diğer çalışmalardan daha düşük oranda saptanmıştır. Bunun nedeni ETEC’in daha çok seyahat ilişkili ishal etkeni olmasına bağlanmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gastrointestinal sistemin kommensal üyelerinden olan *E. coli* suşlarının intestinal veya ekstraintestinal enfeksiyonlara sebep olabilen çeşitliliği dikkat çekicidir. Bazı enfeksiyonları hafif seyirli olsa da, *E. coli* hala önemli bir halk sağlığı sorunudur. Pek çok patotipin düşük dozlarda bulaşması ve çeşitli kaynaklar arasında yayılma potansiyeli yüksektir. Gıda, su, evcil ve yabani hayvanlar ve insanlar, kontaminasyon ve bulaşmanın potansiyel noktalarıdır. Bu çalışmada dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının virülans faktörleri (*eae*, *pEAF*, *daaC*, *aatA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx₁* ve *stx₂*) gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile saptanmış, Konya/Türkiye'de 0-5 yaş aralığında akut ishalli çocuklarda DEC patotipleri, (EPEC, EIEC, ETEC, EHEC, STEC, EAEC, DAEC) tanımlanmış ve sıklığı araştırılmıştır.

Çalışmaya alınan toplam 312 *E.coli* suşunun 56'sında tek, 254'ünde miks DEC patotipi saptanmış, 2 örnek tiplendirilememiştir. Akut ishalli çocuklarda saptanan DEC izolatlarının patotiplere göre dağılımı incelendiğinde DAEC 281(%90,6), EPEC 187(%60,4), EAEC 159(%51,3), EIEC 43(%13,9), EHEC 31(%10,0) ve ETEC dört (%1,3) ve STEC iki (%0,6) hastada gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile tespit edilmiştir. DAEC yılın her ayında yüksek oranda saptanmış, DEC enfeksiyonunda en baskın patotip olduğu bulunmuştur. STEC iki vakada tespit edilmiş, sıklığı en düşük patotip olarak belirlenmiştir. Miks enfeksiyonlar da ise en sık DAEC+EPEC+EAEC birlikteliği tespit edilmiştir.

Bu çalışma Türkiye'de tüm diyarejenik *E.coli* patotiplerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı tek merkezli olmasıdır. Türkiye'de hangi patotiplerin yaygın olduğunun belirlenmesi için çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır. Hastane ve toplum kaynaklı DEC enfeksiyonları yıllık sürveyans çalışmaları ile düzenli bir şekilde takip edilmeli, gerekli önlemler alınmalı ve bu sonuçlara göre tedavi protokolleri düzenlenmelidir. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında DEC'in tespiti için bir multipleks PZR sisteminin rutin olarak kullanılması önemli bir tanı aracı olacaktır. Maliyet geliştirmekte olan ülkeler için önemli bir sınırlama teşkil etse de, ishal olgularına doğru tanı konulmasını ve hedefe yönelik tedavi edilmesini sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abu-Elyazeed R, Wierzba TF, Mourad AS, Peruski LF, Kay BA, Rao M, Churilla AM, Bourgeois AL, Mortagy AK, Kamal SM, 1999. Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea in a pediatric cohort in a periurban area of lower Egypt. *The Journal of infectious diseases*, 179, 2, 382-9.
- Afset JE, Bergh K, Bevanger L, 2003. High prevalence of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Norwegian children with diarrhoea. *Journal of medical microbiology*, 52, 11, 1015-9.
- Afset JE, Bevanger L, Romundstad P, Bergh K, 2004. Association of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) with prolonged diarrhoea. *Journal of medical microbiology*, 53, 11, 1137-44.
- Ahn CK, Holt NJ, Tarr PI, 2009. Shiga-toxin producing *Escherichia coli* and the hemolytic uremic syndrome: what have we learned in the past 25 years? In: *Hot Topics in Infection and Immunity in Children V*. Eds: Springer, p. 1-17.
- Al-Gallas N, Bahri O, Bouratbeen A, Haasen AB, Aissa RB, 2007. Etiology of acute diarrhea in children and adults in Tunis, Tunisia, with emphasis on diarrheagenic *Escherichia coli*: prevalence, phenotyping, and molecular epidemiology. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 77, 3, 571-82.
- Allos BM, Moore MR, Griffin PM, Tauxe RV, (2004). Surveillance for sporadic foodborne disease in the 21st century: the FoodNet perspective, The University of Chicago Press.
- Almanza A, 2011. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in certain raw beef products. *Federal Register*, 77, 9.
- Altındış M, 2010. Hemşireler İçin Mikrobiyoloji. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, Hadımköy-İSTANBUL, p. 181-193.
- Arikawa K, Nishikawa Y, 2010. Interleukin-8 induction due to diffusely adherent *Escherichia coli* possessing Afa/Dr genes depends on flagella and epithelial Toll-like receptor 5. *Microbiology and immunology*, 54, 9, 491-501.
- Arslantürk A, Zarakolu P, Güvener E, 1997. Çocuk yaş grubu akut enterokolit olgularında etken olarak *Escherichia coli* O157: H7 serotipinin araştırılması. *Klinik Derg*, 10, 3, 122-4.
- Aydoğan S, Sünbül M, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Esen Ş, 2001. Akut ishaller hastalarda *Escherichia coli* O157 ve *Aeromonas* türlerinin sıklığı. *Mikrobiyol Bül*, 35, 4, 525-30.
- Aygün G, 2015. In: *Klinik Mikrobiyoloji Uygulamaları* Eds: Kiraz N. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, p. 44-56.
- Banu A, Kabbin JS, . AM, 2011. *Escherichia coli*'ye bağlı ekstraintestinal enfeksiyonlar: Ortaya çıkan bir konu. *J Clin Diagn Res.*, 5 486-90.
- Barletta F, Ochoa TJ, Cleary TG, 2013. Multiplex real-time PCR (MRT-PCR) for diarrheagenic. In: *PCR Detection of Microbial Pathogens*. Eds: Springer, p. 307-14.
- Barnes H, Gross W, (1997). *Colibacillosis* In: Calnek, BW (ed.) *Disease of Poultry*, University Press, Ames, Iowa State.
- Batzing BL, 2002. *Microbiology: an introduction*, Brooks/Cole, p.
- Beatty ME, Bopp CA, Wells JG, Greene KD, Puhf ND, Mintz ED, 2004. Enterotoxin-producing *Escherichia coli* O169: H41, United States. *Emerging infectious diseases*, 10, 3, 518.

- Behiry IK, Abada EA, Ahmed EA, Labeeb RS, 2011. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. *The Scientific World Journal*, 11, 2613-9.
- Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis MA, Gordon DC, Tarr PI, Bartleson CA, Lewis JH, Barrett TJ, Wells JG, 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: h7—associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the Washington experience. *Jama*, 272, 17, 1349-53.
- Berkiten R, 2005. Fakültatif Anaerob Gram Negatif ÇomaklarIn: Tıbbi Mikrobiyoloji. Eds: E B, p. 51- 68.
- Bétis F, Brest P, Hofman V, Guignot J, Bernet-Camard M-F, Rossi B, Servin A, Hofman P, 2003. The Afa/Dr adhesins of diffusely adhering *Escherichia coli* stimulate interleukin-8 secretion, activate mitogen-activated protein kinases, and promote polymorphonuclear transepithelial migration in T84 polarized epithelial cells. *Infection and immunity*, 71, 3, 1068-74.
- Bhan M, Raj P, Levine M, Kaper J, Bhandari N, Srivastava R, Kumar R, Sazawal S, 1989. Enteraggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. *Journal of Infectious Diseases*, 159, 6, 1061-4.
- Bhandari N, Mazumder S, Taneja S, Dube B, Agarwal R, Mahalanabis D, Fontaine O, Black RE, Bhan MK, 2008. Effectiveness of zinc supplementation plus oral rehydration salts compared with oral rehydration salts alone as a treatment for acute diarrhea in a primary care setting: a cluster randomized trial. *Pediatrics*, 121, 5, e1279-e85.
- Biçer M, 2012. Mastitisli sığırlardan izole edilen shiga toksini üreten *Escherichia coli* suşlarının virulans faktörlerinin saptanması, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bielaszewska M, Middendorf B, Tarr PI, Zhang W, Prager R, Aldick T, Dobrindt U, Karch H, Mellmann A, 2011. Chromosomal instability in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7: impact on adherence, tellurite resistance and colony phenotype. *Molecular microbiology*, 79, 4, 1024-44.
- Bielaszewska M, Prager R, Köck R, Mellmann A, Zhang W, Tschäpe H, Tarr PI, Karch H, 2007. Shiga toxin gene loss and transfer in vitro and in vivo during enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 infection in humans. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 10, 3144-50.
- Bilge S, Clausen C, Lau W, Moseley S, 1989. Molecular characterization of a fimbrial adhesin, F1845, mediating diffuse adherence of diarrhea-associated *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Journal of Bacteriology*, 171, 8, 4281-9.
- Bilgehan H, 2000. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. baskı. İzmir: Barış Yayınları, 293-5.
- Bilgehan H, 2004. Entrobacteraceae: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, Ankara, 425-54.
- Bilgehan H, 2009. Klinik mikrobiyolojik tanı, Fakülteler Kitabevi, Barış yayınları, p.
- Binnicker MJ, 2015. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection: performance, result interpretation, and cost-effectiveness. *Journal of clinical microbiology*, 53, 12, 3723-8.
- Blanco M, Blanco J, Mora A, Dahbi G, Alonso M, González E, Bernárdez M, Blanco J, 2004. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae-ξ). *Journal of clinical microbiology*, 42, 2, 645-51.

- Boisen N, Scheutz F, Rasko DA, Redman JC, Persson S, Simon J, Kotloff KL, Levine MM, Sow S, Tamboura B, 2011. Genomic characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. *Journal of Infectious Diseases*, 205, 3, 431-44.
- Bortolini MR, Trabulsi LR, Keller R, Frankel G, Sperandio V, 1999. Lack of expression of bundle-forming pili in some clinical isolates of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) is due to a conserved large deletion in the bfp operon. *FEMS microbiology letters*, 179, 1, 169-74.
- Bozcal E, Yiğittürk G, Uzel A, Aydemir SŞ, 2016. Investigation of enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* associated with hemolytic uremic syndrome in İzmir Province, Turkey. *Turkish journal of medical sciences*, 46, 3, 733-41.
- Bray J, 1945. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from summer diarrhoea of infants. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 57, 2, 239-47.
- Brown JA, Hite DS, Gillim-Ross LA, Maguire HF, Bennett JK, Patterson JJ, Comstock NA, Watkins AK, Ghosh TS, Vogt RLJPidj, 2012. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotype O26: H11 infection at a child care center in Colorado. 31, 4, 379-83.
- Bulut Y, İşeri L, Ağel E, Durmaz B, 2003. Akut gastroenterit ön tanılı çocuklarda rotavirüs pozitifliği.
- Butler T, 2012. Haemolytic uraemic syndrome during shigellosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106, 7, 395-9.
- Camacho AI, Irache JM, Gamazo C, 2013. Recent progress towards development of a *Shigella* vaccine. *Expert review of vaccines*, 12, 1, 43-55.
- Canizalez-Roman A, Flores-Villaseñor HM, Gonzalez-Nuñez E, Velazquez-Roman J, Vidal JE, Muro-Amador S, Alapizco-Castro G, Díaz-Quinonez JA, León-Sicaños N, 2016. Surveillance of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrhea cases from children, adults and elderly at Northwest of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 7, 1924.
- Canizalez-Roman A, Velazquez-Roman J, Valdez-Flores MA, Flores-Villaseñor H, Vidal JE, Muro-Amador S, Guadrón-Llanos AM, Gonzalez-Nuñez E, Medina-Serrano J, Tapia-Pastrana G, 2019. Detection of antimicrobial-resistance diarrheagenic *Escherichia coli* strains in surface water used to irrigate food products in the northwest of Mexico. *International journal of food microbiology*, 304, 1-10.
- Cantekin Z, İzgür M, 2015. Detection of Virulence Properties *Escherichia coli* Originated From Poultry by Phenotypic and Molecular Methods. *Van Veterinary Journal*, 26, 2, 71-6.
- Carayol N, Van Nhieu GT, 2013. Tips and tricks about *Shigella* invasion of epithelial cells. *Current opinion in microbiology*, 16, 1, 32-7.
- Carbonare SB, Silva MLM, Palmeira P, Carneiro-Sampaio MM, 1997. Human colostrum IgA antibodies reacting to enteropathogenic *Escherichia coli* antigens and their persistence in the faeces of a breastfed infant. *Journal of diarrhoeal diseases research*, 53-8.
- Cárcamo C, Hooton T, Wener MH, Weiss NS, Gilman R, Arevalo J, Carrasco J, Seas C, Caballero M, Holmes KK, 2005. Etiologies and manifestations of persistent diarrhea in adults with HIV-1 infection: a case-control study in Lima, Peru. *The Journal of infectious diseases*, 191, 1, 11-9.
- Cengiz T, Mısırlıgil A, Aydın M, 2004. Tıp ve dış hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi.
- Cennimo D, Abbas A, Huang DB, Chiang T, 2009. The prevalence and virulence characteristics of enteroaggregative *Escherichia coli* at an urgent-care clinic in the USA: a case-control study. *Journal of medical microbiology*, 58, 4, 403-7.

- Choi SY, Jeon Y-S, Lee JH, Choi B, Moon SH, von Seidlein L, Clemens JD, Dougan G, Wain J, Yu J, 2007. Multilocus sequence typing analysis of *Shigella flexneri* isolates collected in Asian countries. *Journal of medical microbiology*, 56, Pt 11, 1460.
- Church D, Emshey D, Semeniuk H, Lloyd T, Pitout J, 2007. Evaluation of BBL CHROMagar O157 versus sorbitol-MacConkey medium for routine detection of *Escherichia coli* O157 in a centralized regional clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 45, 9, 3098-100.
- Čobeljić M, Miljković-Selimović B, Paunović-Todosijević D, Veličković Z, Lepšanović Z, Zec N, Savić D, Ilić R, Konstantinović S, Jovanović B, 1996. Enterohaggregative *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhoea in a neonatal nursery ward. *Epidemiology & Infection*, 117, 1, 11-6.
- Cohen MB, Nataro JP, Bernstein DI, Hawkins J, Roberts N, Staat MA, 2005. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in acute childhood enteritis: a prospective controlled study. *The Journal of pediatrics*, 146, 1, 54-61.
- Coimbra RS, Artiguenave F, Jacques LS, Oliveira GC, 2010. MST (molecular serotyping tool): a program for computer-assisted molecular identification of *Escherichia coli* and *Shigella* O antigens. *Journal of clinical microbiology*, 48, 5, 1921-3.
- Control CfD, Prevention, 2012. Foodborne diseases active surveillance network (FoodNet): FoodNet surveillance report for 2011 (final report). Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC.
- Control CfD, Prevention, 2013. Surveillance for foodborne disease outbreaks--United States, 2009-2010. 62, 3, 41.
- Control CfD, Prevention, (2019). National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) Now: Human Data. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.
- Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB, 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 26, 4, 822-80.
- Çaylan R, 2017. Bakteriyel ishaller. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Eds, p. 1051-64.
- Dallman T, Smith GP, O'Brien B, Chattaway MA, Finlay D, Grant KA, Jenkins C, 2012. Characterization of a verocytotoxin-producing enterohaggregative *Escherichia coli* serogroup O111: H21 strain associated with a household outbreak in Northern Ireland. *Journal of clinical microbiology*, 50, 12, 4116-9.
- Dalton C, Mintz E, Wells J, Bopp C, Tauxe R, 1999. Outbreaks of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in American adults: a clinical and epidemiologic profile. *Epidemiology & Infection*, 123, 1, 9-16.
- Debeleç B, Coşar G, 2007. Ege ve akdeniz bölgesi'nde üropatojen *Escherichia coli* kökenlerinin florokinolonlara duyarlılığı. *Turkish Journal of Infection*, 21, 1, 15-20.
- Deborah Chen H, Frankel G, 2005. Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. *FEMS microbiology reviews*, 29, 1, 83-98.
- Demir M, 2001. Patojen *Escherichia coli* suşlarında siderofor ve diğer virulans faktörlerinin araştırılması ve patojenitedeki rollerinin cilt enfeksiyon modeliyle gösterilmesi, Pamukkale Üniversitesi.
- Demir M, Cevahir N, Kaleli İ, 2007. Siprofloksasinin sub-minimal inhibitör konsantrasyonlarının *Escherichia coli* suflarının hemaglutinasyon özellikleri üzerine etkisinin araştırılması.

- Denno DM, Shaikh N, Stapp JR, Qin X, Hutter CM, Hoffman V, Mooney JC, Wood KM, Stevens HJ, Jones R, 2012. Diarrhea etiology in a pediatric emergency department: a case control study. *Clinical infectious diseases*, 55, 7, 897-904.
- Donnenberg M, Mandel G, Bemet J, John R, Mandel D, (2005). *Enterobacteriaceae: In Principles and Practice of infectious diseases*, London. Elsevier, Churchill, Livingstone.
- Dow M, Toth I, Malik A, Herpay M, Nogrady N, Ghenghesh K, Nagy B, 2006. Phenotypic and genetic characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAEC) from diarrhoeal and non-diarrhoeal children in Libya. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 29, 2-3, 100-113.
- Dudley EG, Thomson NR, Parkhill J, Morin NP, Nataro JP, 2006. Proteomic and microarray characterization of the AggR regulon identifies a *pheU* pathogenicity island in enteroaggregative *Escherichia coli*. *Molecular microbiology*, 61, 5, 1267-82.
- DuPont HL, 2009. Bacterial diarrhea. *New England Journal of Medicine*, 361, 16, 1560-9.
- DuPont HL, Ericsson CD, Farthing MJ, Gorbach S, Pickering LK, Rombo L, Steffen R, Weinke T, 2009. Expert review of the evidence base for prevention of travelers' diarrhea. *Journal of travel medicine*, 16, 3, 149-60.
- DuPont HL, Levine MM, Hornick RB, Formal SB, 1989. Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. *The Journal of infectious diseases*, 159, 6, 1126-8.
- Ekşi F, Karşılıgil T, Bayram A, 2007. Çocukluk yaş grubu ishallerinde *Escherichia coli* O157: H7'nin araştırılması. *Van Tıp Derg*, 14, 1, 15-8.
- Erensoy S, Tokbaş A, 1992. İzmir'deki sürgün olgularında *Escherichia coli* O157: H7 araştırılması. *İnfeksiyon Derg (Turkish J Infect)*, 6, 285-6.
- Ericsson CD, DuPont HL, Okhuysen PC, Jiang ZD, DuPont MW, 2007. Loperamide plus azithromycin more effectively treats travelers' diarrhea in Mexico than azithromycin alone. *Journal of travel medicine*, 14, 5, 312-9.
- Estrada-Garcia T, Navarro-Garcia F, 2012. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 66, 3, 281-98.
- Ewers C, Janßen T, Kießling S, Philipp H-C, Wieler LH, 2004. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Veterinary microbiology*, 104, 1-2, 91-101.
- Feng Y-Z, Sun D-W, 2012. Application of hyperspectral imaging in food safety inspection and control: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52, 11, 1039-58.
- Fidan I, Yüksel S, Sipahi A, Özkan S, Sultan N, 2006. Üriner sistem infeksiyonlarından etken olarak izole edilen *Escherichia coli* suşlarında hemagglütinasyon ve hemolizin üretimi. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 20, 22-5.
- Fındık D, 2008. *Escherichia* türleri. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul: Nobel Kitapevi, 2136.
- Flores J, Okhuysen PC, 2009. Enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *Current opinion in gastroenterology*, 25, 1, 8-11.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, 2007. *Study guide for Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, Mosby USA, p.

- Foster MA, Iqbal J, Zhang C, McHenry R, Cleveland BE, Romero-Herazo Y, Fannesbeck C, Payne DC, Chappell JD, Halasa N, 2015. Enteropathogenic and enteroaggregative *E. coli* in stools of children with acute gastroenteritis in Davidson County, Tennessee. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 83, 3, 319-24.
- Galbadage T, Jiang Z-D, DuPont HL, 2009. Improvement in detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in patients with travelers' diarrhea by increasing the number of *E. coli* colonies tested. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 80, 1, 20-3.
- Gassama-Sow A, Sow PS, Guèye M, Guèye-N'diaye A, Perret JL, M'boup S, Aïdara-Kane AJTJoid, 2004. Characterization of pathogenic *Escherichia coli* in human immunodeficiency virus-related diarrhea in Senegal. 189, 1, 75-8.
- Girginkardeşler N, Üz O, 2011. Kalıcı boyalı yaymalar. *Parazitolojide Laboratuvar. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları*, İzmir. ISBN, 987-0.
- Giron JA, Ho A, Schoolnik GKJS, 1991. An inducible bundle-forming pilus of enteropathogenic *Escherichia coli*. 254, 5032, 710-3.
- Glandt M, Adachi JA, Mathewson JJ, Jiang Z-D, DiCesare D, Ashley D, Ericsson CD, DuPont HL, 1999. Enteroaggregative *Escherichia coli* as a cause of traveler's diarrhea: clinical response to ciprofloxacin. *Clinical infectious diseases*, 29, 2, 335-8.
- Goldwater PN, Bettelheim KA, 2012. Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS). *BMC medicine*, 10, 1, 12.
- Goldwater PN, Bettelheim KAJBm, 2012. Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS). 10, 1, 12.
- Gomes TA, Vieira MA, Abe CM, Rodrigues D, Griffin PM, Ramos SR, 1998. Adherence patterns and adherence-related DNA sequences in *Escherichia coli* isolates from children with and without diarrhea in São Paulo city, Brazil. *Journal of clinical microbiology*, 36, 12, 3609-13.
- Gómez-Duarte OG, Arzuza O, Urbina D, Bai J, Guerra J, Montes O, Puello M, Mendoza K, Castro GY, 2010. Detection of *Escherichia coli* enteropathogens by multiplex polymerase chain reaction from children's diarrheal stools in two Caribbean-Colombian cities. *Foodborne pathogens and disease*, 7, 2, 199-206.
- Gonzales TK, Kulow M, Park D-J, Kaspar CW, Anklam KS, Pertzborn KM, Kerrish KD, Ivanek R, Döpfer D, 2011. A high-throughput open-array qPCR gene panel to identify, virulotype, and subtype O157 and non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Molecular and cellular probes*, 25, 5-6, 222-30.
- Gordillo ME, Reeve GR, Pappas J, Mathewson JJ, DuPont H, Murray B, 1992. Molecular characterization of strains of enteroinvasive *Escherichia coli* O143, including isolates from a large outbreak in Houston, Texas. *Journal of clinical microbiology*, 30, 4, 889-93.
- Gould LH, Bopp C, Strockbine N, Atkinson R, Baselski V, Body B, Carey R, Crandall C, Hurd S, Kaplan R, 2009. Recommendations for diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports*, 58, 12, 1-14.
- Gould LH, Group SCLDW, 2012. Update: recommendations for diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *Clinical Microbiology Newsletter*, 34, 10, 75-83.
- Grad YH, Lipsitch M, Feldgarden M, Arachchi HM, Cerqueira GC, FitzGerald M, Godfrey P, Haas BJ, Murphy CI, Russ C, 2012. Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104: H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proceedings of the national academy of sciences*, 109, 8, 3065-70.

- Group OW, 2012. Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: annual report of the OzFoodNet network, 2010. Communicable diseases intelligence quarterly report, 36, 3, E213.
- Guerrant RL, Oriá RB, Moore SR, Oriá MO, Lima AA, 2008. Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development. *Nutrition reviews*, 66, 9, 487-505.
- Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, Hennessy T, Griffin PM, DuPont H, Bradley Sack R, 2001. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clinical infectious diseases*, 32, 3, 331-51.
- Guignot J, Hudault S, Kansau I, Chau I, Servin AL, 2009. Human decay-accelerating factor and CEACAM receptor-mediated internalization and intracellular lifestyle of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli* in epithelial cells. *Infection and immunity*, 77, 1, 517-31.
- Gunzburg ST, Chang BJ, Elliott SJ, Burke V, Gracey M, 1993. Diffuse and enteroaggregative patterns of adherence of enteric *Escherichia coli* isolated from aboriginal children from the Kimberley region of Western Australia. *Journal of Infectious Diseases*, 167, 3, 755-8.
- Gupta S, Keck J, Ram P, Crump J, Miller M, Mintz E, 2008. Part III. Analysis of data gaps pertaining to enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in low and medium human development index countries, 1984–2005. *Epidemiology & Infection*, 136, 6, 721-38.
- Hale CR, Scallan E, Cronquist AB, Dunn J, Smith K, Robinson T, Lathrop S, Tobin-D'Angelo M, Clogher P, 2012. Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 54, suppl_5, S472-S9.
- Harrington SM, Dudley EG, Nataro JP, 2006. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS microbiology letters*, 254, 1, 12-8.
- Hascelik G, Akan ÖA, Diker S, Baykal M, 1991. *Campylobacter* and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) associated gastroenteritis in Turkish children. *Journal of diarrhoeal diseases research*, 315-7.
- Hauswaldt S, Nitschke M, Sayk F, Solbach W, Knobloch JK-M, 2013. Lessons learned from outbreaks of Shiga toxin producing *Escherichia coli*. *Current infectious disease reports*, 15, 1, 4-9.
- Hermos CR, Janineh M, Han LL, McAdam AJ, 2011. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in children: diagnosis and clinical manifestations of O157: H7 and non-O157: H7 infection. *Journal of clinical microbiology*, 49, 3, 955-9.
- Hernandes RT, Elias WP, Vieira MA, Gomes TAJFml, 2009. An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. 297, 2, 137-49.
- Hickey CA, Beattie TJ, Cowieson J, Miyashita Y, Strife CF, Frem JC, Peterson JM, Butani L, Jones DP, Havens PL, 2011. Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 165, 10, 884-9.
- Holtz LR, Neill MA, Tarr PI, 2009. Acute bloody diarrhea: a medical emergency for patients of all ages. *Gastroenterology*, 136, 6, 1887-98.
- Hsia R-C, Small P, Bavoil P, 1993. Characterization of virulence genes of enteroinvasive *Escherichia coli* by TnphoA mutagenesis: identification of invX, a gene required for entry into HEp-2 cells. *Journal of bacteriology*, 175, 15, 4817-23.
- Huang DB, Mohamed JA, Nataro JP, DuPont HL, Jiang Z-D, Okhuysen PC, 2007. Virulence characteristics and the molecular epidemiology of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from travellers to developing countries. *Journal of medical microbiology*, 56, 10, 1386-92.

- Huang DB, Nataro JP, DuPont HL, Kamat PP, Mhatre AD, Okhuysen PC, Chiang T, 2006. Enterotoxigenic *Escherichia coli* is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis. *Clinical infectious diseases*, 43, 5, 556-63.
- Iyoda S, Tamura K, Itoh K, Izumiya H, Ueno N, Nagata K, Togo M, Terajima J, Watanabe H, 2000. Inducible stx2 phages are lysogenized in the enterotoxigenic and other phenotypic *Escherichia coli* O86: HNM isolated from patients. *FEMS microbiology letters*, 191, 1, 7-10.
- Jenkins C, Tembo M, Chart H, Cheasty T, Willshaw GA, Phillips AD, Tompkins D, Smith H, 2006. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in faecal samples from patients in the community with diarrhoea. *Journal of medical microbiology*, 55, 11, 1493-7.
- Johnson S, Hendson W, Crewe-Brown H, Dini L, Frean J, Perovic O, Vardas E, 2000. Effect of human immunodeficiency virus infection on episodes of diarrhea among children in South Africa. *The Pediatric infectious disease journal*, 19, 10, 972-9.
- Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH, 2011. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11.
- Kaleli İ, Şengül M, Özen N, Akşit F, 1999. Gastroenteritli olgularda *Escherichia coli* O157'nin araştırılması. *İnfeksiyon Derg*, 13, 2, 235-8.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL, 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2, 2, 123.
- Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, Isaac-Renton J, Clark C, Rahn K, Kaper JB, 2003. Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* serotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *Journal of clinical microbiology*, 41, 11, 4930-40.
- Knutton S, Baldwin T, Williams P, McNeish A, 1989. Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of a new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infection and immunity*, 57, 4, 1290-8.
- Knutton S, Phillips A, Smith H, Gross R, Shaw R, Watson P, Price E, 1991. Screening for enteropathogenic *Escherichia coli* in infants with diarrhea by the fluorescent-actin staining test. *Infection and Immunity*, 59, 1, 365-71.
- Knutton S, Shaw R, Phillips AD, Smith HR, Willshaw GA, Watson P, Price E, 2001. Phenotypic and genetic analysis of diarrhea-associated *Escherichia coli* isolated from children in the United Kingdom. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 33, 1, 32-40.
- Konaté A, Dembélé R, Kagambèga A, Soulama I, Kaboré WA, Sampo E, Cissé H, Sanou A, Serme S, Zongo S, 2017. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* in children less than 5 years of age with diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7, 3, 220-8.
- Koneman EW, Allen SD, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, 1997. Diagnostic microbiology. The nonfermentative gram-negative bacilli. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 253-320.
- Kopecko DJ, 1994. [3] Experimental keratoconjunctivitis (Sereny) assay. In: *Methods in enzymology*. Eds: Elsevier, p. 39-47.
- Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, Wu Y, Sow SO, Sur D, Breiman RF, 2013. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *The Lancet*, 382, 9888, 209-22.
- Kurt H, Gündeş S, Geyik M, 2013. Enfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

- Kweon M-N, 2008. Shigellosis: the current status of vaccine development. *Current opinion in infectious diseases*, 21, 3, 313-8.
- Lampel K, Al-Khalidi S, Cahill S, 2012. *Bad bug book. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. Washington, DC, USA: Center for Food Safety and Applied Nutrition. Food and Drug Administration, US Department of Health and Human Services.
- Lan R, Alles MC, Donohoe K, Martinez MB, Reeves PR, 2004. Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Infection and immunity*, 72, 9, 5080-8.
- Lapeyraque A-L, Malina M, Fremaux-Bacchi V, Boppel T, Kirschfink M, Oualha M, Proulx F, Clermont M-J, Le Deist F, Niaudet P, 2011. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *New England Journal of Medicine*, 364, 26, 2561-3.
- Lawson JM, 2004. Update on *Escherichia coli* O157: H7. *Current gastroenterology reports*, 6, 4, 297-301.
- Le Bouguénec C, Servin AL, 2006. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): hitherto unrecognized pathogens. *FEMS microbiology letters*, 256, 2, 185-94.
- Leimbach A, Hacker J, Dobrindt U, 2013. *E. coli* as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. In: *Between pathogenicity and commensalism*. Eds: Springer, p. 3-32.
- Levine MM, Edelman R, 1984. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. *Epidemiologic reviews*, 6, 31-51.
- Levine MM, Ferreccio C, Prado V, Cayazzo M, Abrego P, Martinez J, Maggi L, Baldini MM, Martin W, Maneval D, 1993. Epidemiologic studies of *Escherichia coli* diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile. *American Journal of Epidemiology*, 138, 10, 849-69.
- Levine MM, Kotloff KL, Barry EM, Pasetti MF, Sztein MB, 2007. Clinical trials of *Shigella* vaccines: two steps forward and one step back on a long, hard road. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 7, 540.
- Lin A, Nguyen L, Lee T, Clotilde LM, Kase JA, Son I, Carter JM, Lauzon CR, 2011. Rapid O serogroup identification of the ten most clinically relevant STECs by Luminex microbead-based suspension array. *Journal of microbiological methods*, 87, 1, 105-10.
- Lopes LM, Fabbriotti SH, Ferreira AJ, Kato MA, Michalski J, Scaletsky IC, 2005. Heterogeneity among strains of diffusely adherent *Escherichia coli* isolated in Brazil. *Journal of clinical microbiology*, 43, 4, 1968-72.
- Loureiro I, Frankel G, Adu-Bobie J, Dougan G, Trabulsi LR, Carneiro-Sampaio MM, 1998. Human Colostrum Contains IgA Antibodies Reactive to Enteropathogenic *Escherichia coli* Virulence-Associated Proteins: Intimin, BfpA, EspA, and EspB. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 27, 2, 166-71.
- Mackenzie A, Orrbine E, Hyde L, Benoit M, Chan F, Park C, Alverson J, Lembke A, Hoban D, Kennedy W, 2000. Performance of the ImmunoCard STAT! *E. coli* O157: H7 test for detection of *Escherichia coli* O157: H7 in stools. *Journal of clinical microbiology*, 38, 5, 1866-8.
- Mandal A, Sengupta A, Kumar A, Singh UK, Jaiswal AK, Das P, Das S, 2017. Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Pathotypes in Diarrheal Children from Low Socioeconomic Status Communities in Bihar, India: Emergence of the CTX-M Type. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 10, 1178633617739018.

- Manning SD, 2010. *Escherichia coli* infections, Infobase Publishing, p.
- Maranhao H, Medeiros M, Scaletsky I, Fagundes-Neto U, Morais M, 2008. The epidemiological and clinical characteristics and nutritional development of infants with acute diarrhoea, in north-eastern Brazil. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 102, 4, 357-65.
- March SB, Ratnam S, 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157: H7 associated with hemorrhagic colitis. *Journal of clinical microbiology*, 23, 5, 869-72.
- Marteyn B, Gazi A, Sansonetti P, 2012. *Shigella*: a model of virulence regulation in vivo. *Gut microbes*, 3, 2, 104-20.
- Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD, 2015. *Escherichia coli* ST131: the quintessential example of an international multiresistant high-risk clone. In: *Advances in applied microbiology*. Eds: Elsevier, p. 109-54.
- Mathewson JJ, Salameh BM, DuPont HL, Jiang ZD, Nelson AC, Arduino R, Smith MA, Masozera N, 1998. HEP-2 cell-adherent *Escherichia coli* and intestinal secretory immune response to human immunodeficiency virus (HIV) in outpatients with HIV-associated diarrhea. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 5, 1, 87-90.
- Medellin-Pena MJ, Griffiths MW, 2009. Effect of molecules secreted by *Lactobacillus acidophilus* strain La-5 on *Escherichia coli* O157: H7 colonization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 4, 1165-72.
- Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, Prior K, Szczepanowski R, Ji Y, Zhang W, 2011. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104: H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PloS one*, 6, 7, e22751.
- Mendez Arancibia E, Pitart C, Ruiz J, Marco F, Gascon J, Vila J, 2009. Evolution of antimicrobial resistance in enteroaggregative *Escherichia coli* and enterotoxigenic *Escherichia coli* causing traveller's diarrhoea. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64, 2, 343-7.
- Mogna L, Del Piano M, Deidda F, Nicola S, Soattini L, Debiaggi R, Sforza F, Strozzi G, Mogna G, 2012. Assessment of the in vitro inhibitory activity of specific probiotic bacteria against different *Escherichia coli* strains. *Journal of clinical gastroenterology*, 46, S29-S32.
- Mortensen NP, Fowlkes JD, Maggart M, Doktycz MJ, Nataro JP, Drusano G, Allison DP, 2011. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of ciprofloxacin on enteroaggregative *Escherichia coli* and the role of the surface protein dispersin. *International journal of antimicrobial agents*, 38, 1, 27-34.
- Mossoro C, Glaziou P, Yassibanda S, Lan NTP, Bekondi C, Minssart P, Bernier C, Le Bouguénec C, Germani Y, 2002. Chronic diarrhea, hemorrhagic colitis, and hemolytic-uremic syndrome associated with HEP-2 adherent *Escherichia coli* in adults infected with human immunodeficiency virus in Bangui, Central African Republic. *Journal of clinical microbiology*, 40, 8, 3086-8.
- Mukhopadhyay S, Linstedt AD, 2012. Manganese blocks intracellular trafficking of Shiga toxin and protects against Shiga toxicosis. *Science*, 335, 6066, 332-5.
- Muni S, Dey S, Krishan Nandan K, Paul Biswas P, Sen AJJEMDS, 2014. A bacteriological study among patients below five years of age suffering from diarrhoea and gastroenteritis with special reference to the responsible serotypes of *Escherichia coli* at a tertiary healthcare hospital in Eastern Bihar. 3, 12592-601.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, 2009. *Medical microbiology*. Philadelphia: Mosby, Elsevier.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, 2015. *Medical microbiology*, Elsevier Health Sciences, p.

- Nataro JP, 2005. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Current opinion in gastroenterology*, 21, 1, 4-8.
- Nataro JP, Hicks S, Phillips AD, Vial PA, Sears CL, 1996. T84 cells in culture as a model for enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 64, 11, 4761-8.
- Nataro JP, Kaper JB, 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11, 1, 142-201.
- Nataro JP, Kaper JB, Robins-Browne R, Prado V, Vial P, Levine MM, 1987. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *The Pediatric infectious disease journal*, 6, 9, 829-31.
- Nataro JP, Mai V, Johnson J, Blackwelder WC, Heimer R, Tirrell S, Edberg SC, Braden CR, Morris Jr JG, Hirshon JM, 2006. Diarrheagenic *Escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland, and New haven, Connecticut. *Clinical infectious diseases*, 43, 4, 402-7.
- Nataro JP, Yikang D, Cookson S, Cravioto A, Savarino SJ, Guers LD, Levine MM, Tacket CO, 1995. Heterogeneity of Enteroaggregative *Escherichia coli* Virulence Demonstrated. *Journal of Infectious Diseases*, 171, 2, 465-8.
- Navarro-Garcia F, Elias WP, 2011. Autotransporters and virulence of enteroaggregative *E. coli*. *Gut microbes*, 2, 1, 13-24.
- Neter E, Westphal O, Lüderitz O, Gino RM, Gorzynski EA, 1955. Demonstration of Antibodies against Enteropathogenic *Escherichia coli* in Sera of Children of Various Ages. *Pediatrics*, 16, 6, 801-8.
- Nguyen RN, Taylor LS, Tauschek M, Robins-Browne RM, 2006. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* infection and prolonged diarrhea in children. *Emerging infectious diseases*, 12, 4, 597.
- Nishikawa Y, Zhou Z, Hase A, Ogasawara J, Kitase T, Abe N, Nakamura H, Wada T, Ishii E, Haruki K, 2002. Diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: prevalence of enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing *E. coli*. *Japanese journal of infectious diseases*, 55, 6, 183-90.
- Nitschke M, Sayk F, Härtel C, Roseland RT, Hauswaldt S, Steinhoff J, Fellermann K, Derad I, Wellhöner P, Büning J, 2012. Association between azithromycin therapy and duration of bacterial shedding among patients with Shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104: H4. *Jama*, 307, 10, 1046-52.
- Niyogi SK, 2005. Shigellosis. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 43, 2, 133-43.
- Norman KN, Strockbine NA, Bono JL, 2012. Association of nucleotide polymorphisms within the O-antigen gene cluster of *Escherichia coli* O26, O45, O103, O111, O121, and O145 with serogroups and genetic subtypes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 18, 6689-703.
- Nowicki B, Svanborg-Eden C, Hull R, Hull S, 1989. Molecular analysis and epidemiology of the Dr hemagglutinin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and immunity*, 57, 2, 446-51.
- Nyanga PL, Onyuka J, Webale MK, Were T, Budambula VJG, bench hfbt, 2017. *Escherichia coli* pathotypes and *Shigella* sero-groups in diarrheic children in Nairobi city, Kenya. 10, 3, 220.
- O'Brien AD, LaVeck GD, Thompson MR, Formal SB, 1982. Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*, 146, 6, 763-9.
- O'Ryan M, Prado V, Pickering LK. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Seminars in pediatric infectious diseases*, 125-36.

- Ochoa TJ, Barletta F, Contreras C, Mercado E, 2008. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102, 9, 852-6.
- Ochoa TJ, Cleary TG, 2009. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. *Biochimie*, 91, 1, 30-4.
- Ochoa TJ, Rivera FP, Bernal M, Meza R, Ecker L, Gil AI, Cepeda D, Mosquito S, Mercado E, Maves RC, 2010. Detection of the CS20 colonization factor antigen in diffuse-adhering *Escherichia coli* strains. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 60, 2, 186-9.
- Offit P, Clark M, 2000. *Reoviruses. Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th. Philadelphia, Pa, USA: Churchill Livingstone, 1696-703.
- Ogura Y, Ooka T, Iguchi A, Toh H, Asadulghani M, Oshima K, Kodama T, Abe H, Nakayama K, Kurokawa K, 2009. Comparative genomics reveal the mechanism of the parallel evolution of O157 and non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 42, 17939-44.
- Okeke IN, 2009. Diarrheagenic *Escherichia coli* in sub-Saharan Africa: status, uncertainties and necessities. *The journal of infection in developing countries*, 3, 11, 817-42.
- Okeke IN, Wallace-Gadsden F, Simons HR, Matthews N, Labar AS, Hwang J, Wain J, 2010. Multi-locus sequence typing of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from Nigerian children uncovers multiple lineages. *PLoS One*, 5, 11, e14093.
- Okeke IN, 2009. Diarrheagenic *Escherichia coli* in sub-Saharan Africa: status, uncertainties and necessities. 3, 11, 817-42.
- Okhuysen PC, DuPont HL, (2010). *Enterotoxigenic Escherichia coli (EPEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance*, The University of Chicago Press.
- Omerovic M, Müştak HK, Kaya İB, 2012. *Escherichia coli* Patotiplerinin Virölens Faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28, 1, 1-6.
- Organization WH, 2012. *World health statistics 2012* [Internet]. Geneva: WHO.
- Ouyang-Latimer J, Jafri S, VanTassel A, Jiang Z-D, Gurleen K, Rodriguez S, Nandy RK, Ramamurthy T, Chatterjee S, McKenzie R, 2011. In vitro antimicrobial susceptibility of bacterial enteropathogens isolated from international travelers to Mexico, Guatemala, and India from 2006 to 2008. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55, 2, 874-8.
- Özsoy M, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A, 2001. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora*, 6, 3-23.
- Padhye NV, Doyle MP, 1992. *Escherichia coli* O157: H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *Journal of Food Protection*, 55, 7, 555-65.
- Pai CH, Ahmed N, Lior H, Johnson WM, Sims HV, Woods DE, 1988. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: a two-year prospective study. *The Journal of infectious diseases*, 157, 5, 1054-7.
- Pai M, Kang G, Ramakrishna B, Venkataraman A, Muliyl J, 1997. An epidemic of diarrhoea in south India caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Indian J Med Res*, 106, 7-12.
- Panchalingam S, Antonio M, Hossain A, Mandomando I, Ochieng B, Oundo J, Ramamurthy T, Tamboura B, Zaidi AK, Petri W, 2012. Diagnostic microbiologic methods in the GEMS-1 case/control study. *Clinical infectious diseases*, 55, suppl_4, S294-S302.
- Paton JC, Paton AW, 1998. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical microbiology reviews*, 11, 3, 450-79.

- Patrick R. Murray EJB, James H. Jorgensen , Marie Louise Landry, Michael A.Pfaller, 2009. *Escherichia, Shigella and Salmonella Clinical Microbiology*. 9, 670-83.
- Patzi-Vargas S, Zaidi MB, Perez-Martinez I, León-Cen M, Michel-Ayala A, Chaussabel D, Estrada-Garcia T, 2015. Diarrheagenic *Escherichia coli* carrying supplementary virulence genes are an important cause of moderate to severe diarrhoeal disease in Mexico. *PLoS neglected tropical diseases*, 9, 3.
- Pérez-Losada M, Cabezas P, Castro-Nallar E, Crandall KAJI, Genetics, Evolution, 2013. Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology. 16, 38-53.
- Perez C, Gómez-Duarte OG, Arias ML, 2010. Diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Costa Rica. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 83, 2, 292-7.
- Pérez C, Gómez-Duarte OG, Arias MLJTajotm, hygiene, 2010. Diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Costa Rica. 83, 2, 292-7.
- Pfeiffer ML, DuPont HL, Ochoa TJ, 2012. The patient presenting with acute dysentery—a systematic review. *Journal of Infection*, 64, 4, 374-86.
- Potter AA, Klashinsky S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, Erickson G, Hinkley S, Klopfenstein T, Moxley RA, 2004. Decreased shedding of *Escherichia coli* O157: H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine*, 22, 3-4, 362-9.
- Program NES, (2010). National enteric surveillance program (NESP) annual summary 2010, The National Microbiology Laboratory (NML) and Centre for Food-borne .
- Qadri F, Saha A, Ahmed T, Al Tarique A, Begum YA, Svennerholm A-M, 2007. Disease burden due to enterotoxigenic *Escherichia coli* in the first 2 years of life in an urban community in Bangladesh. *Infection and immunity*, 75, 8, 3961-8.
- Qadri F, Svennerholm A-M, Faruque A, Sack RB, 2005. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clinical microbiology reviews*, 18, 3, 465-83.
- Qadri F, Svennerholm A-M, Faruque A, Sack RB, 2005. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. 18, 3, 465-83.
- Rabbani GH, Ahmed S, Hossain MI, Islam R, Marni F, Akhtar M, Majid N, 2009. Green banana reduces clinical severity of childhood shigellosis: a double-blind, randomized, controlled clinical trial. *The Pediatric infectious disease journal*, 28, 5, 420-5.
- Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL, 2005. Epidemiology of *Escherichia coli* O157: H7 outbreaks, united states, 1982–2002. *Emerging infectious diseases*, 11, 4, 603.
- Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, Bashir A, Boisen N, Scheutz F, Paxinos EE, Sebra R, Chin C-S, Iliopoulos D, 2011. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic–uremic syndrome in Germany. *New England Journal of Medicine*, 365, 8, 709-17.
- Ratchtrachenchai O-A, Subpasu S, Hayashi H, Ba-Thein W, 2004. Prevalence of childhood diarrhoea-associated *Escherichia coli* in Thailand. *Journal of medical microbiology*, 53, 3, 237-43.
- Ray B, (2004). Microbial stress response in the food environment. “Fundamental Food Microbiology”, CRC press LLC., New York.
- Rivero MA, Passucci JA, Rodriguez EM, Parma AE, 2010. Role and clinical course of verotoxigenic *Escherichia coli* infections in childhood acute diarrhoea in Argentina. *Journal of medical microbiology*, 59, 3, 345-52.

- Robins-Browne RM, 1987. Traditional enteropathogenic *Escherichia coli* of infantile diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*, 9, 1, 28-53.
- Rodas C, Iniguez V, Qadri F, Wiklund G, Svennerholm A-M, Sjöling Å, 2009. Development of multiplex PCR assays for detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* colonization factors and toxins. *Journal of clinical microbiology*, 47, 4, 1218-20.
- Rojas-Lopez M, Monterio R, Pizza M, Desvaux M, Rosini R, 2018. Intestinal pathogenic *Escherichia coli*: Insights for vaccine development. *Frontiers in microbiology*, 9, 440.
- Russo TA, Johnson JR, 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and infection*, 5, 5, 449-56.
- Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG, 2002. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157: H7 enteritis: a meta-analysis. *Jama*, 288, 8, 996-1001.
- Scaletsky I, Silva M, Trabulsi LR, 1984. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infection and immunity*, 45, 2, 534-6.
- Scaletsky IC, Pedroso MZ, Oliva CA, Carvalho RL, Morais MB, Fagundes-Neto U, 1999. A localized adherence-like pattern as a second pattern of adherence of classic enteropathogenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells that is associated with infantile diarrhea. *Infection and immunity*, 67, 7, 3410-5.
- Scaletsky IC, Souza TB, Aranda KR, Okeke IN, 2010. Genetic elements associated with antimicrobial resistance in enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from Brazil. *BMC microbiology*, 10, 1, 25.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL, Jones JL, Griffin PM, 2011. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging infectious diseases*, 17, 1, 7.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL, Jones JL, Griffin PM, 2011. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *17*, 1, 7.
- Schroeder GN, Hilbi H, 2008. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical microbiology reviews*, 21, 1, 134-56.
- Seifert ME, Tarr PI, 2012. Therapy: azithromycin and decolonization after HUS. *Nature Reviews Nephrology*, 8, 6, 317.
- Serter D, Ertem E, Gökengin D, 2000. Başlıca bakteriyel, paraziter ve mikotik enfeksiyon hastalıkları, Nobel Tıp Kitabevleri, p.
- Servin AL, 2005. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 18, 2, 264-92.
- Shah N, DuPont HL, Ramsey DJ, 2009. Global etiology of travelers' diarrhea: systematic review from 1973 to the present. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 80, 4, 609-14.
- Shariff M, Bhan M, Knutton S, Das B, Saini S, Kumar R, 1993. Evaluation of the fluorescence actin staining test for detection of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of clinical microbiology*, 31, 2, 386-9.
- Shiga K, 1898. Ueber den Erreger der Dysenterie in Japan. *Cent. Bakteriolog. Parasitenkunde Infektionskrankh.*, 23, 599-600.

- Singh T, Das S, Ramachandran V, Dar SA, Sneha K, Saha R, Shah D, 2017. Spectrum of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in paediatric population suffering from diarrhoea and as commensals in healthy children. *Indian journal of medical microbiology*, 35, 2, 204.
- Sjöling Å, Wiklund G, Savarino S, Cohen D, Svennerholm A-M, 2007. Comparative analyses of phenotypic and genotypic methods for detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* toxins and colonization factors. *Journal of clinical microbiology*, 45, 10, 3295-301.
- Snelling AM, Macfarlane-Smith LR, Fletcher JN, Okeke IN, 2009. The commonly-used DNA probe for diffusely-adherent *Escherichia coli* cross-reacts with a subset of enteroaggregative *E. coli*. *BMC microbiology*, 9, 1, 269.
- Souza TB, Lozer DM, Kitagawa SM, Spano LC, Silva NP, Scaletsky IC, 2013. Real-time multiplex PCR assay and melting curve analysis for identifying diarrheagenic *Escherichia coli*. *Journal of clinical microbiology*, 51, 3, 1031-3.
- Steinsland H, Valentiner-Branth P, Gjessing HK, Aaby P, Mølbak K, Sommerfelt H, 2003. Protection from natural infections with enterotoxigenic *Escherichia coli*: longitudinal study. *The Lancet*, 362, 9380, 286-91.
- Stermer E, Lubezky A, Potasman I, Paster E, Lavy A, 2006. Is traveler's diarrhea a significant risk factor for the development of irritable bowel syndrome? A prospective study. *Clinical infectious diseases*, 43, 7, 898-901.
- Stigi KA, MacDonald JK, Tellez-Marfin AA, Lofy KH, 2012. Laboratory practices and incidence of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Emerging infectious diseases*, 18, 3, 477.
- Strachan NJ, Dunn GM, Locking ME, Reid TM, Ogden ID, 2006. *Escherichia coli* O157: burger bug or environmental pathogen? , 112, 2, 129-37.
- Strockbine N, Maurelli A, 2005. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; Brenner DJ, Krieg, NR, Staley, JT editor. NY: Springer.
- Subramanian K, Selvakkumar C, Vinaykumar KS, Goswami N, Meenakshisundaram S, Balakrishnan A, Lakshmi BS, 2009. Tackling multiple antibiotic resistance in enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) clinical isolates: a diarylheptanoid from *Alpinia officinarum* shows promising antibacterial and immunomodulatory activity against EPEC and its lipopolysaccharide-induced inflammation. *International journal of antimicrobial agents*, 33, 3, 244-50.
- Suzart S, Guth BE, Pedrosa MZ, Okafor UM, Gomes TA, 2001. Diversity of surface structures and virulence genetic markers among enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) strains with and without the EAEC DNA probe sequence. *FEMS microbiology letters*, 201, 2, 163-8.
- Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV, Force CPT, 2001. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerging infectious diseases*, 7, 3, 382.
- Şahin C, 2005. Gastroenteritli Olgularda *E. coli* O157: H7 Serotipinin Araştırılması, Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Türkiye., p.
- Şahin İ, Başoğlu F, 2011. Gıda mikrobiyolojisi, Dora Yayınları, p.
- Taneja N, Das A, Rao DR, Jain N, Singh M, Sharma M, 2003. Nosocomial outbreak of diarrhoea by enterotoxigenic *Escherichia coli* among preterm neonates in a tertiary care hospital in India: pitfalls in healthcare. *Journal of Hospital Infection*, 53, 3, 193-7.
- Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL, 2005. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *The lancet*, 365, 9464, 1073-86.

- Taş E, 2004. Ardiç N. Akut gastroenteritli olgularda termofilik *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157: H7 ve rotavirus sıklığı. *Klinik Dergisi*, 17, 3, 186-90.
- Taşdemir C, 2009. Toplum ve hastane kaynaklı İnfeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antimikrobiyal direnç fenotiplerinin araştırılması uzmanlık tezi T. C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- Thabane M, Kottachchi D, Marshall J, 2007. Systematic review and meta-analysis: the incidence and prognosis of post-infectious irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 26, 4, 535-44.
- Thomas EE, Roscoe DL, Book L, Bone B, Browne L, Mah V, 1994. The utility of latex agglutination assays in the diagnosis of pediatric viral gastroenteritis. *American journal of clinical pathology*, 101, 6, 742-6.
- Tobias J, Kassem E, Rubinstein U, Bialik A, Vutukuru S-R, Navaro A, Rokney A, Valinsky L, Ephros M, Cohen D, 2015. Involvement of main diarrheagenic *Escherichia coli*, with emphasis on enteroaggregative *E. coli*, in severe non-epidemic pediatric diarrhea in a high-income country. *BMC infectious diseases*, 15, 1, 79.
- Töreci K, 2002. *Escherichia* türleri. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 2, 1564-74.
- Trabulsi LR, Keller R, Gomes TAT, 2002. 10.321/eid0805. Typical and Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerging infectious diseases*, 8, 5, 508.
- Trofa AF, Ueno-Olsen H, Oiwa R, Yoshikawa M, 1999. Dr. Kiyoshi Shiga: discoverer of the dysentery bacillus. *Clinical infectious diseases*, 29, 5, 1303-6.
- Tunçkanat F, 1993. Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri. *Klinik Derg*, 6, 3.
- Tutak GA, Tuğrul HMJMB, 2015. İshalli Hastalarda Patojenik *Escherichia coli* Kökenlerinin Araştırılması. 49, 1, 124-9.
- Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M, 2005. *Asya Mikrobiyoloji*. Baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi, 54.
- Ulutun F, 2017. Akut ishalli hastaya yaklaşım. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* 4, 988-94.
- Vally H, Hall G, Dyda A, Raupach J, Knope K, Combs B, Desmarchelier P, 2012. Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000-2010. *BMC public health*, 12, 1, 63.
- Venturini C, Beatson SA, Djordjevic SP, Walker MJ, 2010. Multiple antibiotic resistance gene recruitment onto the enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence plasmid. *The FASEB Journal*, 24, 4, 1160-6.
- Verma S, Venkatesh V, Kumar R, Kashyap S, Kumar M, Maurya AK, Dhole T, Singh M, 2019. Etiological agents of diarrhea in hospitalized pediatric patients with special emphasis on diarrheagenic *Escherichia coli* in North India. *Journal of laboratory physicians*, 11, 1, 68.
- Viboud GI, Jouve MJ, Binsztejn N, Vergara M, Rivas M, Quiroga M, Svennerholm A-M, 1999. Prospective Cohort Study of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Infections in Argentinean Children. *Journal of clinical microbiology*, 37, 9, 2829-33.
- Vieira MA, Salvador FA, Silva RM, Irino K, Vaz TM, Rockstroh AC, Guth BE, Gomes TAJJocm, 2010. Prevalence and characteristics of the O122 pathogenicity island in typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains. 48, 4, 1452-5.

- Vieira N, Bates SJ, Solberg OD, Ponce K, Howsmon R, Cevallos W, Trueba G, Riley L, Eisenberg JN, 2007. High prevalence of enteroinvasive *Escherichia coli* isolated in a remote region of northern coastal Ecuador. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 76, 3, 528-33.
- Vieira N, Bates SJ, Solberg OD, Ponce K, Howsmon R, Cevallos W, Trueba G, Riley L, Eisenberg JN, 2007. High prevalence of enteroinvasive *Escherichia coli* isolated in a remote region of northern coastal Ecuador. 76, 3, 528-33.
- Von Seidlein L, Kim DR, Ali M, Lee H, Wang X, Thiem VD, Chaicumpa W, Agtini MD, Hossain A, Bhutta ZA, 2006. A multicentre study of *Shigella* diarrhoea in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and microbiology. *PLoS medicine*, 3, 9, e353.
- Vonberg RP, Höhle M, Aepfelbacher M, Bange FC, Belmar Campos C, Claussen K, Christner M, Cramer JP, Haller H, Hornef M, 2013. Duration of fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104: H4 in patients infected during the 2011 outbreak in Germany: A multicenter study. *Clinical infectious diseases*, 56, 8, 1132-40.
- Walker CLF, Rudan I, Liu L, Nair H, Theodoratou E, Bhutta ZA, O'Brien KL, Campbell H, Black RE, 2013. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. *The Lancet*, 381, 9875, 1405-16.
- Walker FO, 2007. Huntington's disease. *The Lancet*, 369, 9557, 218-28.
- Wennerås C, Erling V, 2004. Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli*-associated diarrhoea and carrier state in the developing world. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 370-82.
- WHO, (2011). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual epidemiological report 2011. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data [Internet].
- Wood D, Bijlsma K, De Jong J, Tonkin C, 1989. Evaluation of a commercial monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detection of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 6, 1155-8.
- Yang J-R, Wu F-T, Tsai J-L, Mu J-J, Lin L-F, Chen K-L, Kuo SH-S, Chiang C-S, Wu H-S, 2007. Comparison between O serotyping method and multiplex real-time PCR to identify diarrheagenic *Escherichia coli* in Taiwan. *Journal of clinical microbiology*, 45, 11, 3620-5.
- Yeniiz E, ÖNCÜL O, ÇAVUŞLU Ş, 2009. İshalli hastaların dışkılarında *Escherichia coli* O157: H7 varlığının araştırılması. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 29, 6, 1398-405.
- York M, Traylor M, Hardy J, Henry M, 2007. Urine cultures. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2, 3.12.
- Youcong W, Li B, Lei Z, Lixian W, Yunhua P, 2009. Exploration on Medical Microbiology and Immunology Teaching Practice for Oversea Students [J]. *Journal of Dali University*, 12.
- Zhou Y, Zhu X, Hou H, Lu Y, Yu J, Mao L, Mao L, Sun Z, 2018. Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among children under 5 years of age with acute diarrhea: a hospital based study. *BMC infectious diseases*, 18, 1, 63.

7. EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Formu

	T.C. SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI	
Toplantı Sayısı: 2018/18	Toplantı Tarihi : 26.09.2018
Karar Sayısı 2018/326 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Hatice TÜRK DAĞI'nın "Akut ishalli Beş Yaş Altı Çocuklarda Diyarejenik <i>Escherichia coli</i> İzolatlarının Sıklığı" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 28.08.2018 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü. Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Doç.Dr.Hatice TÜRK DAĞI'nın "Akut ishalli Beş Yaş Altı Çocuklarda Diyarejenik <i>Escherichia coli</i> İzolatlarının Sıklığı" adlı araştırmasının kabulüne oy birliği ile karar verildi.	
 ASLI GİBİDİR 26/09/2018 S.Selcen ÇELİK Sekreteryas	
27/09/2018 S. İşçi	: Z.ATEŞ
Evrakı Doğrulamak İçin : http://193.255.244.181/enVision-Sorgula/Validate_Doc.aspx?V=BENU5E59B Akademi Mah. Yeni İstanbul Cad. No:313 Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubad Yerleşkesi Selçuklu - Konya 42250 Türkiye Bilgi için: Zehra ATEŞ Tel:43844 Faks:3322412184 e-Posta :dekanliktip@selcuk.edu.tr Elektronik Ağ :www.selcuk.edu.tr selcukuniversitesi@hs01.kep.tr Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.	

8. ÖZGEÇMİŞ

Ayşegül Koç, T.C. uyruklu 09.03.1982 doğumlu olup; doğum yeri Ankara/Polatlı'dır. İlk, Orta ve Lise eğitimini Konya şehrinde 2000 yılında tamamlamıştır. Lisans eğitimini Atatürk Üniversitesi, Afet ve Acil Durum bölümünde 2017 yılında mezun olmuştur. Yüksek lisans eğitimine Selçuk Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji anabilim dalında 2017 yılında başlamıştır. 14.10. 2008 – 28.02.2009 tarihleri arasında Akdemir Tarım Makineleri Bilgisayar işletmeni olarak görev yapmış, iş kariyerine 02.03.2009 – 14.07.2010 tarihlerinde Konya Çeltik Sağlık Grup Başkanlığı Laboratuvarında Laboratuvar teknisyeni olarak, 15.07.2010 – 02.2012 Balıkesir üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Laboratuvar teknikeri olarak görev yapmış, 02.03.2012– Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Laboratuvar teknikeri olarak göreve başlamış ve burada halen görevine devam etmektedir. Katıldığı kurs ve bitirme sertifikaları; Previ Color Gram cihazı katılım sertifikası, Lanjıe Jınan LJ-2000 Gaita analiz cihazı eğitim sertifikası, VITEK® 2 Compact VITEK® 2 Compact katılım sertifikası, Lightcyler Sistem ve Software kullanıcı eğitim sertifikası, BacT/ALERT 3D katılım sertifikası, BD Bactec 9120 Serisi otomatik kan kültür cihazları eğitim sertifikası, Beckman Coulter Immage 800 Nefelometre cihazı kullanıcı eğitim sertifikası, Roche Cobas e601- Cobas e411 eğitim sertifikası, Biomerieux Vidas cihazı kullanıcı eğitim sertifikası, Bilgisayar işletmenliği (Microsoft Office Programları) kurs bitirme belgesi, Bilgisayarlı muhasebe kurs bitirme belgesi. Laboratuvar tecrübeleri ise dezenfeksiyon ve sterilizasyon yapılması, besiyeri hazırlaması, dışkı mikroskopi ve parazitolojik yönden incelenmesi, bakterinin biyokimyasal testlerle (Gram boyama, katalaz testi, kuagülaz testi, oksidaz testi, indol testi vs.) tanımlanması ve manuel antibiyogram yapılması, manuel ELISA testlerin çalışılması ve değerlendirilmesi, slide test, wright testi, commbs testinin yapılması, bakteri DNA izolasyonunun yapılması, gerçek zamanlı multipleks ve monopleks PZR hazırlama aşamalarının yürütülmesi, cihaza yüklenmesi ve yorumlanması, agaroz jel elektroforezi hazırlama aşamalarının yürütülmesi, cihaza yüklenmesi, görüntülenmesi ve yorumlanması. Sözlü sunum ve posterler: Maçın S, Koç A , Türk Dağı H. Microorganisms isolated from blood cultures of patients pre-diagnosed with sepsis in intensive care units, Sözlü sunum Bildiri No:77, 1. Uluslararası ve 24. Ulusal Multidisipliner Klinik Toksikoloji

Kongresi, 25-27 Mayıs 2019. Konya/Türkiye. Maçın S, Koç A , Türk Dağı H. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların Bronkoalveoller lavaj örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların sıklığının araştırılması. Poster No:116 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 28 Ekim- 01Kasım 2019. İzmir/Türkiye. Koç A , Türk Dağı H. The frequency of diarrheagenic *Escherichia coli* isolates in childrens with acute diarrhea under five years. Poster No: 4173, 30 th ECCMID, 18–21 April 2020. Parice/France.

İletişim Bilgileri:

Telefon : 0507 359 11 16
e-mail : aysegul_ozr@hotmail.com

