

BAKTERİYEL GASTROENTERİTLERDE LABORATUVAR TANI

Filiz AKŞİT

Laboratory diagnosis in bacterial gastroenteritis.

Yeryüzünde geniş dağılım gösteren, gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık sorunları arasında ve özellikle çocuk ölümlerine neden olan hastalıklar içinde yer alan gastroenteritlerde etyolojinin bilinmesi gereklidir.

Bakteriyel gastroenteritlerde laboratuvar tanı başlığı altında etyolojiye yönelik mikrobiyolojik yöntemlere sırasıyla yer verilmiştir.

Salmonella

Salmonella'lar insanda gastroenterit, enterik ateş, bakteriyemi ve asemptomatik taşıyıcılık klinik tablolarına yol açarlar. *Salmonella* gastroenteritinde tanı etkenin uygun örnekten izolasyonu ile konur. Bu örnekler şüpheli besin maddesi olabileceği gibi çoğunlukla dışkıdır. Dışkının makroskopik incelemesinde çoğunlukla kan ve müküs içermediği görülür. Dışkının mikroskopik incelemesinde orta miktarda parçalı lökosit, mononükleer hakimiyeti ve nadiren eritrosit bulunur. Floresan antikor boyama yöntemi uygulanabilmekte beraber, oluşan çapraz reaksiyonlar nedeniyle besin endüstrisine yönelik kullanımlar dışında tercih edilmemektedir(7,13,25,29).

Tanı amacıyla uygulanan en önemli metod, bakterinin üretilmesidir. Bu amaçla incelenen en uygun örnek dışkıdır. Hastalığın erken döneminde dışkı ile atılan mikroorganizma sayısı çok fazla olmakta ve bu atılım iki-üç hafta sürmektedir. Etkenin izolasyonu için dışkı, seçerek üretici besiyeri niteliği olan GN, selenit-F, tetrasyonat besiyerlerinden birisine ekilir. Bu ekimden 6-18 saat sonra ayırtıcı özelliği olan besiyerlerinden birisine (SS,XLD, HE, dezoksikolat sitrat agar gibi) pasaj yapılır. Ayrıca dışkı doğrudan MacConkey, EMB, Endo gibi ayırtıcı özelliği olan besiyerlerine de ekilir. *Salmonella* şüpheli örneklerin seçici özelliği daha fazla olan bizmut sülfid agar veya brilliant yeşili agara da ekilmesi önerilmektedir. Bu besiyerlerinde üreyen mikroorganizma kolonilerinden şüpheli olanlar biyokimyasal deneylerle ve daha sonra antiserumla yapılan lam aglütinasyonu ile tanımlanabilir(1,9,25). [Klasik tanımlama yöntemlerinin uzun sürede sonuç vermesi, çeşitli besiyeri ve ayırıcılara gereksinim duyulması nedeniyle hazır bileşik sistemler geliştirilmiştir. API 20E, API Rapid E, Enteric Tok, Enterotube II ve Micro-ID gibi. Bu sistemler izole edilen bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi esasına dayanmakta ve 6-8 saat içinde sonuç vermektedir(7,9)].

Bakteri izolasyonunu takiben serotiplendirilmenin yapılması epidemiyolojik açıdan değerlidir. Aynı serotipe ait olan izolatların bulunması durumunda faj tiplendirilmesi ve plazmid profil analizinin yapılması gereklidir(10).

Shigella

Şigeloz tanısı için dışkı veya rektal sürüntü örneğinin incelenmesi yapılmalıdır. Dışkının doğrudan incelenmesi, sigmoidoskopi sırasında alınan rektal sürüntü örneğinin incelenmesine göre daha değerlidir. Böylece makroskopik ve mikroskopik olarak dışkının incelenmesi mümkün olabilmekte, ayrıca kuruma riski olmadığından, dış koşullara oldukça dayanıksız olan bu bakteriyi üretme şansı artmaktadır(14,24).

Şigeloz olgularında dışkı, makroskopik olarak kanlı ve müküslüdür. Mikroskopik incelemede % 80-90 oranında nötrofil lökosit görülmektedir. Ayrıca erken dönemde hastaların lökosit formülünde bandların yüksek oluşu tanısaldır(16).

Şigeloz kuşkulu hastalarda kültür amacıyla dışkı örneği hasta başında alınmalı; bunun mümkün olmadığı durumlarda ise gliserollü fosfat tamponlu transport besiyeri kullanılmalıdır. Örnek kanlı, müküslü kısımlardan alınarak seçerek üretici ve ayırt edici besiyerlerine ekilmelidir. Kültürlerin değerlendirilmesi sonucunda kuşkulu koloniler biyokimyasal testlerle incelenmeli ve antiserumla aglütinasyon yapılarak izolat tanımlanmalıdır. *Shigella*'lar polivalan *Shigella* antiserumu ile aglütinasyon vermesine rağmen çapraz reaksiyon nedeniyle bazı *E.coli* suşları da

serolojik olarak tiplendirilmesi gereklidir. Epidemiyolojik olarak kaynağın belirlenmesi amacıyla plazmid patern analizi ve kolisin tiplendirilmesi de yapılmaktadır(1,7,24).

Son yıllarda kültür metodu dışında tanısal değeri yüksek olan diğer yaklaşımlarla ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu metodlardan biri olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminde *Shigella* virulans plazmidinin invazyonla ilgili lokusundaki 320 baz çifti çoğaltılarak dışkı örneğinde bulunan 10 *Shigella* bakterisi dahi saptanabilmektedir. Aynı sekansdaki 21 bazlı oligonükleotid kullanılarak yapılan standard DNA hibridizasyon testi, PCR'dan 100 kez daha az duyarlıdır. Shiga toksini ve Shiga-like toksin 1 sekanslarını çoğaltmak için de PCR primerleri oluşturulmuştur. Saha koşullarında ise alkalen fosfatazla işaretli oligonükleotid probu ile Sereny(+) *Shigella* suşları aranabilmektedir. Bu test duyarlı (% 100) ve özgül (% 81) bir testtir. Radyoaktif olmayan maddelerle işaretli problemler özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanılmaktadır. Bu moleküler tekniklerin rutindeki yeri tartışmalıdır. Fekal örneklerin hızlı transportunun sağlanması, iyi bir bakteriyolojik inceleme ve spesifik antiserum kullanımıyla doğru tanının konulabileceği konusunda çeşitli görüşler bulunmaktadır(26,28).

Enteropatojen *Escherichia coli*'ler

Diyare oluşturulan *E.coli*'lerin en az beş farklı kategorisi olduğu bilinmektedir. Bunlar Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC), Enteropatojenik *E.coli* (EPEC), Enterohemorajik *E.coli* (EHEC) ve Enteroaderan *E.coli* (EAEC)'dir(30).

ETEC suşları, kolera benzeri hastalık oluşturmakta, ısıya duyarlı (LT), adenilat siklazı aktive eden ve ısıya dirençli (ST) olmak üzere iki toksini bulunmaktadır(13,30).

ETEC'in tanımlanması enterotoksinlerin gösterilmesi ile yapılmaktadır. Bakteri kültür filtratlarının tavşan barsak lümenine enjeksiyonu ile sıvı toplanması veya hücre kültüründe morfolojik değişiklikler oluşması tanısaldır. Ayrıca dışkıda ya da kültür sıvısında LT'nin immunolojik olarak gösterilmesi veya enterotoksin oluşturan genlerin oligonükleotid problemlerle tanımlanması yapılabilir. CFA-1'i kodlayan genlerin aranması için DNA probu da geliştirilmiştir. Tanısal tekniklerle ilgili çalışmalar halen devam etmekte olup, PCR ile LT ve ST problemleri çoğaltılabilmektedir. Toksinin A subünitesi gen bölgesi bazı primerleri kullanılarak PCR ile tanımlanabilmektedir. Ayrıca ST için duyarlı ve özgül (% 100) olan ELISA yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde ST peptidi ile kolera toksini B subünitesinden oluşan füzyon proteinine karşı monoklonal antikorlar kullanılmaktadır(8,26,28).

EPEC suşlarının ince barsakta kolonizasyonu sonucu yenidoğan ve küçük çocuklarda sık olmak üzere ciddi seyirli diyare gelişmektedir. EPEC suşları günümüzde lokal aderan EAEC sınıfı içinde kabul edilmektedir(28). Tanı dışkı kültürü ile konur. Polivalan ve monovalan anti-B serumları ile lam aglütinasyon yapılmaktadır. Daha sonra pozitif bulunan kolonilerden elde edilen saf kültürlerin kaynatılmış süspansiyonları anti-O bağışık serumlarıyla işleme tabi tutularak O antijenleri belirlenmektedir(28,30).

EIEC suşları *Shigella*'ya benzer şekilde kolonda epitel hücrelerine invaze olmaktadır. Tanıda Sereny deneyi gibi klasik tanı metodlarının yanısıra ELISA ve PCR yöntemleri kullanılabilmektedir. PCR ile invazivliği sağlayan lokus çoğaltılabilmektedir(8,26).

EHEC hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendroma neden olmaktadır. En sık izole edilen serotip O157:H7'dir. Etken *Shigella dysenteriae* tip 1 tarafından oluşturulan Shiga toksinine benzer toksin (SLT) salgılamaktadır. Tanıda in-vitro sitotoksitesite deneyleri zaman alıcı olduğundan sık uygulanmamaktadır. Birçok EHEC suşu O157:H7 serotipine ait olduğu için, antiserumla aglütinasyon yapılarak tanı konmaktadır. Tanıda erken dönemde kültür alınmasının değeri büyüktür. İzolasyon şansı diyare başlangıcında alınan kültür ile % 100 iken, bir haftada % 33'e düşmektedir. Bu suşları tanımlamak için kullanılan diğer metodlar SLT oluşturma ve hızlı sorbitol fermentasyonunun olmayışının gösterilmesidir(28).

EHEC suşlarını tanımlamak için ELISA yöntemi de kullanılmaktadır. Bu yöntem O157:H7'nin 60 mD plazmidine karşı antikor arama temeline dayanmaktadır. Bu metodla hem O157:H7 suşu, hem de diğer EHEC suşları tanımlanabilmektedir. Ayrıca Shiga toksin ve SLT-1'in globotriosil seramide bağlanması esasına dayanan ELISA yöntemi tanımlanmıştır. Bu metodla dışkı ekstraktlarından direkt olarak toksin aranabilir. SLT-1 ve Shiga toksinini aramak için geliştirilen PCR primerleri de rapor edilmiştir(8,26).

EAEC suşları lokal aderan EAEC, diffüz aderan EAEC ve enteroagregan EAEC olmak

üzere üç grupta incelenmektedir. Lokal aderan EAEC suşları EPEC ve diğer serotipleri içermekte olup akut kansız diyare oluşturmaktadır. Pilişi sayesinde Hep-2 hücrelerine tutunan etken mikrovillus yapısını bozmadan mikrokoloniler oluşturmaktadır. Diffüz aderan EAEC suşları ise diyare oluşturmamaktadır. Enteroagregan EAEC suşları kanlı, persistan diyare oluşturmakta olup Hep-2 hücrelerine tutunmaktadır. Bu izolatlar 1kb plazmid DNA probu ile tanımlanabilmektedir (28).

Vibrio cholerae

Mikrobiyolojik tanı amacıyla çoğunlukla dışkı, daha nadir olarak kusmuk, pü, vücut sıvıları veya doku örnekleri incelenebilir. Makroskopik olarak tipik piring yıkantı suyu görünümünde olan dışkının mikroskopik incelemesinde inflamatuvar hücre bulunmamaktadır. Karanlık alan mikroskopisi, deneyimli kişilerce uygulandığında değerli bir tanı yöntemi olmaktadır. Direkt floresan antikor testi sonuçları kültür yöntemi ile % 90 uyumlu bulunmaktadır(12,18).

Kolera tanısında etkenin izolasyonu ve idantifikasyonu amacıyla dışkı ilk 24 saatte alınmalı, mümkün olmadığı koşullarda ise rektal sürüntü örneği incelenmelidir. Bakteri kuruluk, asidite, ışık gibi faktörlere çok duyarlı olduğu için Cary-Blair besiyerinde ya da dışkı kağıt bantlara emdirilerek plastik torbalara konarak taşınmalıdır. Etkenin kanlı agar, MacConkey besiyeri gibi besiyerlerinde üreyebilmesine rağmen esas olarak alkali peptonlu su, TCBS, Monsur ve Aronson gibi özel besiyerleri kullanılmaktadır. *V.cholerae* üretildikten sonra biyokimyasal testlerle tanımlanmalıdır. *V.cholerae* O1 ve diğer *V.cholerae*'ların ayırımı, ayrıca klasik ve El-Tor biyotiplerinin ayırımı da oldukça zor ancak gereklidir. Bu amaçla geliştirilen testlerin hiçbiri yeterli olmamıştır. Bunun için beta-hemoliz oluşturma, tavuk eritrositlerini aglutine etme özelliği, polimiksin-B'ye duyarlılık ve faj IV'e duyarlılık gibi bir seri testin uygulanması gerekmektedir. Tanımlamada biyokimyasal ve serolojik testlerin birarada uygulanması zorunludur(18,19,23).

Yersinia enterocolitica

Y.enterocolitica ciddi seyirli ve bazen ölümlü sonlanan enterokolite neden olmaktadır. Mikroorganizma invaziv olup, *E.coli* ST'ine benzer toksin salgılayarak fokal mukoza ülserleri ve diffüz mezenterik lenfadenite yol açmaktadır(27).

Mikrobiyolojik tanı amacıyla incelenen örnekler en sık olarak dışkı, ayrıca kan, pü, idrar, periton sıvısı, organ biyopsileri ve mezenterik lenf düğümleridir. Dışkı makroskopik olarak kanlı ve müküslü olup, mikroskopik olarak bol lökosit içermektedir(3).

Etkenin izolasyonu için erken dönemde dışkının kanlı-müküslü kısmından ekim yapılmalıdır. Örnek hemen ekilmeyecekse bir transport sıvısına (gliserol+fosfat tamponu) konarak gönderilmelidir. Bu sıvı veya direkt dışkıdan enterobakterilerin izolasyonunda kullanılan besiyerlerine ekilebilir. *Y.enterocolitica* çift ekim yapılarak biri 22-25°C'de 48 saat, diğeri de 37°C'de 24 saat inkübe edilmelidir. SS agar serotip O:3 ve O:9'un üremesini artırırken, MacConkey agar ile SS besiyeri ile üremesi engellenen diğer serotipler de izole edilebilmektedir. Ayrıca seçici özelliği çok fazla olan CIN besiyeri ile 25°C'de 18-20 saatte izolasyon mümkün olmaktadır. *Y.enterocolitica*'nın izolasyonunda dışkı 4°C'de 2-5 gün bekletilip daha sonra ekim yapılmakta ve etkenin izolasyon şansı artmaktadır. Patojen *Yersinia* serotiplerinin ve apatojen suşların ayırımı amacıyla biyokimyasal ve serolojik tiplendirme birarada yapılmalıdır(1,27).

Y.enterocolitica infeksiyonu çeşitli tekniklerle tespit edilebilen immün cevaba yol açmaktadır. Bu teknikler tüp aglutinasyon, indirekt hemaglutinasyon, ELİSA, RIA, kompleman birleşme ve indirekt IFA deneyleridir. Bu testlerde 1/160 ve yukarı titrelerde ve IgM sınıfı antikorların varlığı infeksiyon göstergesidir. Aglutinasyon testlerinde *Brucella*, *Vibrio*, *E.coli* ve *Salmonella* türleri ile çapraz reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir(3,20).

Campylobacter

Campylobacter türleri son 10 yılda bakteriyel gastroenterit etkeni olarak dikkati çekmiştir. *C.jejuni* ve *C.coli* en çok izole edilen türlerdir(5,26).

Dışkının makroskopik incelemesinde kan, müküs ve pü varlığı dikkati çekmektedir. Mikroskopik olarak dışkının polimorf nüveli lökosit ve eritrosit içerdiği görülebilir. İlk iki saat içinde yapılan karanlık alan ve faz kontrast mikroskopisinde hızlı eğilip bükülme ve oksu hareketleri ile *Campylobacter*'ler kolaylıkla ayırt edilebilir. Gram yöntemi ile boyamanın

duyarlılığı % 50-75 olarak bulunmuştur(6).

Etkenin izolasyonu için özel koşullar ve seçici besiyerleri gereklidir. Zengin, kan içerikli, antibiyotikli besiyerlerinde 42°C'de, % 10 CO₂'li ortamda inkübasyon gereklidir. Bu besiyerleri Skirrow, Butzler, Campy-BAP ve varyasyonlarıdır. Seçici besiyerlerine eklenen antibiyotikler vankomisin, polimiksin B, trimetoprim, amfoterisin B ve sefalotindir. Kömürlü besiyeri Skirrow veya Campy agardan daha duyarlı ve daha ucuzdur. Çoğaltıcı besiyerlerine ekim yapılması bakteri miktarı genellikle çok olduğundan gerekli değildir(2,6).

Campylobacter türleri küçük ve hareketli oldukları için 0.45-0.65 mikrometre çaplı filtrelerden geçebilirler. Bu özellik nedeniyle seçici besiyeri kullanmadan filtrasyonla izolasyon mümkündür(4,5). Kültürlerde üreme olmadığı durumlarda serolojik tanı yararlı olmaktadır(2,26).

Son yıllarda DNA problemleri kullanılarak organizmayı tanımlama çalışmaları devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda iki farklı DNA probu oluşturularak, bunların kültürdeki suşları tanımlamada spesifik olduğu gösterilmiştir. Ancak bu yöntem, etkenin direkt dışkı örneğinden ayrılmasında etkili bulunmamıştır. Son çalışmalarda seçici besiyerindeki antibiyotiklere duyarlı, 42°C'de iyi üremeyen aerotoleran bir *Campylobacter* türü tanımlanmıştır.

Epidemiyolojik çalışmalarda bakterinin ısıya duyarlı ve dirençli antijenlerine göre serotiplendirme yapılmaktadır. Faj tiplendirme ve plazmid profili çalışmaları halen devam etmektedir(6).

Helicobacter pylori

H.pylori'nin kronik aktif gastrit ve sonrasında gelişen peptik ülserasyonla ilgisi bilinmektedir. Bazı çalışmalar *H.pylori*'nin sitotoksik faktör oluşturarak peptik ülser gelişiminde etkili olduğunu göstermektedir(5,8).

Tanımda kültür, boyama ve üreaz testinin birlikte uygulanması gereklidir. Gastrik biyopsi örneğinden yapılan boyamada akrinin oranj ile boyama % 85 duyarlılık ve % 100 özgüllük ile en iyi metoddur(8). Etkenin izolasyonu için uygun transport ve inkübasyon koşulları gereklidir. İzole edildiğinde koloni morfolojisi, üreaz, katalaz, oksidaz pozitifliği ve mikroskopik görünüm ile kolaylıkla tanımlanabilir. Bakterinin tanımlanması amacıyla hızlı üreaz testleri geliştirilmiştir. Hızlı üreaz testinin % 62 civarında duyarlılığı nedeniyle biyopsi örneğine PCR metodu uygulanmaya başlanmıştır. Bu metodda *H.pylori*'nin üreaz A gen nükleotid sekansının ilk çifti kullanılmaktadır(26). Invaziv olmayan metodlardan birisi de basit şerit testidir (Entero-test). Bu yöntem gastrik biyopsi kadar etkin bulunmuştur(8,26). Araştırmalar *H.pylori* ile infekte bireylerde mide sıvısında amonyak düzeyinin arttığını ve bunun da infeksiyon indikatörü olabileceğini göstermiştir. Ayrıca serum pepsinojen I konsantrasyonunun *H.pylori* infeksiyonu ile uyumlu olduğu yolunda bulgular da vardır(26).

H.pylori ile infekte hastalarda serum antikor düzeyleri de yüksek bulunmuştur. Bu antikorları aramaya yönelik birçok serolojik test geliştirilmiş olup en sık kullanılanı ELİSA yöntemidir. Bu yöntemle IgG ve IgA antikorları araştırılmaktadır. İkinci jenerasyon ELİSA yöntemi ile anti *H.pylori* IgG sınıfı antikorların aranmasının güvenilirliği çok yüksek bulunmuştur(5,8).

Clostridium difficile

Antibiyotik tedavisi sonrası gelişen psödömembranöz enterokolitte laboratuvar tanı, *C.difficile* toksinlerinin dışkıda gösterilmesi esasına dayanır. Sitotoksin testinde, dışkı filtratındaki toksin B, sitopatik etki yapar. Bu metod yüksek duyarlılığı (% 94-100) ve özgüllüğü (% 99) nedeniyle çok değerlidir. Toksinin birkaç pikogram miktarı bile sitopatik etki oluşturur ve spesifik nötralizan antiserum ile deneyin özgüllüğü belirlenebilir. Klinik tablo ile toksin miktarı arasında bir ilişki olmadığı için sonuç negatif ya da pozitif olarak bildirilir(22).

C.difficile antijen ve toksinlerini tanımlamak için, hızlı immün deneyler vardır. Lateks aglütinasyon yaygın kullanımına rağmen duyarlılığı (% 48-59) ve özgüllüğü (% 95-96) düşük bir metoddur. Son yıllarda toksin A ve toksin B'yi tanımlamaya yönelik bazı ELİSA testleri geliştirilmiştir. Bunların duyarlılığı (% 69-87) ve özgüllüğü (% 99-100) yüksektir. Dışkı sitotoksin testleri duyarlı ve özgül olmasına rağmen pahalı ve deney süresi uzundur. Ticari ELİSA kitleri hızlı, uygulanması kolay ve ucuz olup, duyarlı ve özgüldür. Ayrıca *C.difficile* direkt olarak dışkıdan toksin A genine spesifik DNA probu kullanılarak tanımlanabilmektedir(21,22,28).

Vibrio parahaemolyticus

Vibrio parahaemolyticus diyaresinde dışkı makroskopik olarak sulu, fekaloid, nadiren piring yıkantı suyu görünümünde, bazen mukoid ve nadiren kanlıdır. Mikroskopide her alanda 10-20, nadiren bol lökosit ve eritrosit görülebilmektedir(18).

Etkenin izolasyonu için taşıyıcı besiyeri olarak Cary-Blair, hipertonic (% 3) NaCl, taurokolat-tellüritli su veya % 1 peptonlu buyyon kullanılmaktadır. Etkenin çoğaltılması için daha spesifik besiyerleri olan % 1 glikozlu, % 7 tuzlu, % 1 tacpollü buyyon ve tuzlu kolistinli buyyon seçilmelidir. Örneğin bu besiyerlerinden ve doğrudan TCBS besiyerine yapılan ekimlerinde bakteri tipik yeşil koloni oluşturur. Daha sonra biyokimyasal testlerin uygulanması gereklidir. Etkenin önemli özellikleri; katı besiyerinde yayılarak üremesi, sükroza etki etmemesi, 40-43°C'de ve % 7 NaCl içeren ortamda üreyebilmesidir(1,18).

Patojen suşlarda Sereny testi negatif olup, % 95'in üzerinde suş Wagatsuma agarda hemoliz yapmaktadır (Kanagawa fenomeni). Kanagawa pozitif olan suşlar ısıya dirençli hemolizin oluştururken, Kanagawa negatif suşlarda bu hemolizini kodlayan gen saptanamamıştır(18).

Staphylococcus aureus

Stafilokoklar tarafından oluşturulan enterotoksinler (A,B,C,D,E,F) besin zehirlenmesine neden olurlar. Tanı yiyecek maddesinden, besin işi ile ilgili kişiden, hastanın dışkı veya kusmuk materyelinden yapılan kültür ile konur. Dışkı veya kusmuk çok ciddi olgular dışında kansızdır. *S.aureus* örneklerden nadiren izole edilebilmekle beraber izole edildiğinde faj tiplendirmesi ile aynı suş ürettiği gösterilirse değerlidir. Üretilen suşun enterotoksin oluşturduğunun gösterilmesine yönelik IFA, hemagglütinasyon, jel-difüzyon yöntemi, RIA, mikroslyat jel çift-difüzyon yöntemi kullanılmaktadır. Son yıllarda revers pasif lateks aglütinasyonu ve ELISA sıklıkla kullanılmaktadır. Üretilen suşun bakteriyofaj tipinin belirlenmesi, özellikle kaynağın saptanmasında yararlı olmaktadır(2,23,30).

Bacillus cereus

B.cereus diyarejenik ve kusturucu olmak üzere iki tip toksini ile besin zehirlenmesine yol açar. *B.cereus*'un neden olduğu besin zehirlenmesinin laboratuvar tanısı kolay değildir. Kuşku örnekten lityum klorür ve polimiksin B veya mannitol ve polimiksin B içeren besiyerlerine ekim yapılmalıdır. Besin maddesinin gramunda 10^5 veya daha fazla *B.cereus* bulunması tanıyı desteklemektedir. Enterotoksinin etkisi tavşan barsak lupunda gösterilebilir de uygulaması zor bir yöntemdir. Ayrıca hemagglütinasyon yöntemi de geliştirilmiştir(23,30).

Clostridium perfringens

Etken enterotoksinleriyle besin zehirlenmesi, nekrotik enterit ve nekrotik kolit oluşturmaktadır. *C.perfringens* tip A besin zehirlenmesi ile nekrotik kolite neden olurken, tip C nekrotik enterit etkenidir. *C.perfringens* tip D'nin de enterotoksin oluşturduğu gösterilmiştir.

Tanıda etkenin izolasyonu ve toksinin gösterilmesi gereklidir. İzolasyon için klinik örnekte 10^5 - 10^7 bakteri bulunmalıdır. Bakterinin aynı serotipinin besin maddesi ve hastanın dışkılarından, bunun mümkün olmadığı durumda ise birkaç hastadan izole edilmesi değerlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla *C.perfringens* toksininin dışkıda gösterilmesinde hemagglütinasyon deneyi ve revers CAMP deneyi kullanılmaktadır. Bazı hayvanların barsak lupunda toksinin etkisi ile oluşan sıvı toplanması ve hücre kültürüne sitopatik etkisi gösterilebilir(9,11,15). Sağlıklı bireylerde de bu bakteriye karşı antikorların bulunması nedeniyle serolojik tanı metodları uygulanmamaktadır(11).

Clostridium botulinum

Etken A,B,C1,C2,D,E,F ve G tiplerine ayrılan ekzotoksinleri ile besin zehirlenmesine yol açar. Tanıda dışkı, kan veya kuşku besin maddesinden etkenin izolasyonu ve toksin oluşumunun gösterilmesi gereklidir. Bakteri izolasyonu için örneklerin seçici besiyerine (sikloserin, sulfametoksazol ve trimetoprim içeren) ekilmesi uygundur. Erişkinlerde bakteri izolasyonu ve toksin gösterilmesi mümkün olmadığı durumlar *C.botulinum* infeksiyonundan uzaklaştırılmaz. Toksinin gösterilmesi için fare deneyleri uygulanmakta, elektrofizyolojik çalışmalar da sürdürülmektedir(17).

Aeromonas

Aeromonas türleri kolera benzeri enterotoksini etkisiyle diyare oluşturmaktadır. Diyarelerde sıklıkla izole edilen türler *A.hydrophila* ve *A.sobria*'dır.

Aeromonas türleri sulu ve kansız diyare oluştururlar. Tanıda esas bakterinin üretimidir. Ampisilin içeren kanlı agar ve CIN agar'da 25-30°C'de inkübasyon sıklıkla uygulanan üretim yöntemidir. Etkenin alkali peptonlu su, GN buyyonu ve PBS'ye ekildiğinde izolasyon şansı artmaktadır. Bazı enzimatik özelliklere göre tanımlama yapılabilirse de, bu özellik bazı suşlarla sınırlıdır. Tiplendirme; serotiplendirme, protein jel elektroforezi, izoenzim analizi, bakteriyofaj tiplendirilmesi ve r-RNA gen analizi ile yapılmaktadır(2,18,31).

Tanıda, serolojik testlerin yeri sınırlıdır; çünkü antikor titresi belirgin olarak sistemik infeksiyonlarda artmaktadır.

Plesiomonas

Plesiomonas shigelloides çeşitli ağırlıkta gelişen diyarelerden sorumlu bir türdür. Etken su ve su ürünleri ile bulaşarak, ısıya duyarlı ve dirençli ve HeLa hücrelerine toksik etkisi olan enterotoksinleri ile etkili olmaktadır(2).

Dışkı makroskopik olarak mukoid, yeşilimsi, 1/3 olguda kanlıdır. Mikroskopik olarak incelendiğinde dışkıda yoğun lökosit ve eritrosit varlığı sözkonusudur.

Plesiomonas'ların izolasyonu için *Aeromonas*'ların izolasyonunda kullanılan besiyerleri kullanılmaktadır. En sık kullanılan ayırıcı besiyeri IBB (inositol-safra tuzu-brillant yeşili) agardır. Biyokimyasal özelliklere göre tanımlama ve serolojik tiplendirme yapılmaktadır. Serolojik testlerle serumda antikor aramaya yönelik testler uygulanmamaktadır(2,31).

KAYNAKLAR

- 1- Bilgehan H: *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, s.317 Barış Yayınları Faktülte Kitabevi, İzmir (1992).
- 2- Bilgehan H: *Vibrio parahaemolyticus, Aeromonas, Plesiomonas, Campylobacter ve infeksiyonları*, "Töreci K (ed): *Ülkemizde Yeterince İncelenmeyen Enterik Patojenler*" kitabında s.47, Eskişehir (1989).
- 3- Black RE: *Yersinia enterocolitica*, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases* kitabında s.601, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 4- Blaser MJ: Infections due to *Campylobacter* and *Helicobacter* species, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.597, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 5- Butzler JP, Glupczynski Y, Goossens H: *Campylobacter* and *Helicobacter* infections, *Current Opinion Infect Dis* 5:80 (1992).
- 6- Dunn BE, Blaser MJ: *Campylobacter* (including *H.pylori*), "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.1489, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 7- Farmer JJ, Kelly MT: Enterobacteriaceae "Balows A, Hausler WJ, Herrman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ: *Manual of Clinical Microbiology*" 5.baskı kitabında s.360, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
- 8- Farrar WE: Gastrointestinal infections, *Current Opinion Infect Dis* 5:57 (1992).
- 9- Finegold SM, Baron EJ: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 7.baskı kitabında s.260, The CV Mosby Co (1986).
- 10- Goldberg MB, Miller SI, Rubin RH: Microbiologic aspects of *Salmonella*, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.1478, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 11- Gorbach SL: *Clostridium perfringens* and other Clostridia, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.1587, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 12- Gross RJ: *Vibrio, Mobiluncus* and *Spirillum minus*, "Greenwood D, Slach RCB, Peutherer JF (eds): *Medical Microbiology*" 14. baskı kitabında s.363, Churchill Livingstone, Hong Kong (1992).
- 13- Guerrant RL: Principles and syndromes of enteric infection, "Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE: *Principles and Practice of Infectious Diseases*" s.837, Churchill Livingstone, London (1990).
- 14- Guerrant RL, Babak DA: Bacterial and protozoal gastroenteritis, *N Eng J Med* 325:5, 327 (1991).
- 15- Gürlü N: Barsak patojeni anaerob bakteriler, "Töreci K (ed): *Ülkemizde Yeterince İncelenmeyen Enterik Patojenler*" kitabında s.69, Eskişehir (1989).
- 16- Halpern Z, Averbuch M, Dan M, Giladi M, Levo Y: The differential leukocyte count in adults with acute gastroenteritis, *Scand J Infect Dis* 24:205 (1992).
- 17- Hatheway CL: *Clostridium botulinum*, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.1583, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 18- Holmberg SD: Cholera and related illnesses caused by *Vibrio* species and *Aeromonas*, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.605, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).

- 19- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM: *Zinnser Microbiology*, 19.baskı kitabında s.473, Appleton Lange, Printice Hall (1988).
- 20- Kay BA, Black RE: Francisella, Pasteurella, Yersinia, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.1496, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 21- Kaya D, Kiraz N, Saniç A: Psödomembranöz enterokolit, *S.Ü.Tıp Fak Derg* 8:463 (1992).
- 22- Kelly CP, Potholakis CP, La Mont JT: Clostridium difficile colitis, *N Eng J Med* 330:257 (1994).
- 23- Kelly MT, Hickmann-Brenner FW-Farmer JJ: Vibrio, "Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds): *Manual of Clinical Microbiology*" 5.baskı kitabında s.384, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
- 24- Keusch GT: Shigellosis, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.575, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 25- Lewis MJ: Salmonella, "Greenwood D, Slach RCB, Peutherer JF (eds): *Medical Microbiology*," 14.baskı kitabında s.305, Churchill Livingstone, Hong Kong (1992).
- 26- Mathewson JJ: Laboratory diagnosis of gastrointestinal infections, *Current Opinion Infect Dis* 5:106 (1992).
- 27- Özsan K: Yersinia enterocolitica, Arizona hinshawai, Edwardsiella tarda ve infeksiyonları", Töreci K (ed): *Ülkemizde Yeterince İncelenmeyen Enterik Patojenler*" kitabında s.31, Eskişehir (1989).
- 28- Sansonetti PJ: Escherichia coli, Shigella, antibiotic-associated diarrhea, and prevention and treatment of gastroenteritis, *Current Opinion Infect Dis* 5:66 (1992).
- 29- Snyderman DR: Food-poisoning, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*" kitabında s.628, WB Saunders Co, Pennsylvania (1992).
- 30- Töreci K: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus ve gastroenterit oluşturmaları, "Töreci K (ed): *Ülkemizde Yeterince İncelenmeyen Enterik Patojenler*" kitabında s.18, Eskişehir (1989).
- 31- von Graevenitz A, Allwegg M: Aeromonas and Plesiomonas, "Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ (eds): *Manual of Clinical Microbiology*" 5.baskı kitabında s.396, Am Soc Microbiol, Washington (1991).