



T.C.  
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK  
ANABİLİM DALI



**IRAK DHİ-QAR İLİNDEKİ BEBEKLERDE  
İSHAL ENFEKSİYONLARININ  
PATOJENLERİNİN BELİRLENMESİ**

**HASAN SHAREEF ALMUSAWI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR**

**2025**



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK  
ANABİLİM DALI



**IRAK DHİ-QAR İLİNDEKİ BEBEKLERDE  
İSHAL ENFEKSİYONLARININ  
PATOJENLERİNİN BELİRLENMESİ**

**HASAN SHAREEF ALMUSAWI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. FARUK SELÇUK**

**KIRŞEHİR**

**2025**

**KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI**  
**ETİK BEYANI**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. .... / ..... / 20.....

Hasan Shareef ALMUSAWI

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>3</b>
2.1. İshal .....	3
2.2. İshal Yüğü .....	4
2.3. İshale Neden Olan Başlıca Etkenler .....	5
2.4. İshal Türleri .....	6
2.4.1. Akut sulu ishal.....	6
2.4.2. Dizanteri .....	7
2.4.3. İnatçı ishal .....	7
2.4.4. Kronik ishal .....	8
2.5. İshal Risk Faktörleri .....	8
2.6. Mevcut Çalışmada İncelenen Mikroorganizmalar .....	11
2.6.1. <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.6.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
2.6.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.6.4. <i>Entamoeba histolytica</i> .....	21
2.6.5. <i>Candida albicans</i> .....	24
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>27</b>
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	27
3.1.1. Laboratuvar ekipmanları ve cihazları.....	27
3.1.2. Kimyasal materyaller .....	28
3.1.3. Kültür besiyeri.....	28
3.1.4. Primerler.....	29
3.2. Sterilizasyon Yöntemleri.....	29
3.2.1. Isıtma yoluyla sterilizasyon.....	29

3.2.2. Filtreleme yoluyla sterilizasyon .....	29
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	30
3.3.1. Normal salin çözeltisi.....	30
3.3.2. Üre çözeltisi.....	30
3.3.3. Fosfat tampon salin (PBS).....	30
3.3.4. McFarland bulanıklık çözeltisi.....	30
3.3.5. Gram boyama çözeltisi.....	30
3.3.6. Laktofenol mavi boyası.....	31
3.3.7. Kristal menekşe çözeltisi.....	31
3.4. Reaktiflerin Hazırlanması .....	31
3.4.1. Oksidaz reaktifi .....	31
3.4.2. Katalaz reaktifi .....	31
3.4.3. Metil kırmızı reaktifi .....	31
3.4.4. Kovac reaktifi.....	31
3.4.5. Voges-Proskauer reaktifi.....	32
3.5. Kültür Besiyeri .....	32
3.5.1. Hazır kültür besiyerinin hazırlanması .....	32
3.5.2. Sentetik kültür besiyerlerinin hazırlanması (Laboratuvarda hazırlanan besiyerleri).....	32
3.6. Çalışma Yöntemleri.....	34
3.6.1. Dışkı örneklerinin toplanması .....	34
3.6.2. Dışkının mikroskopik incelenmesi.....	34
3.6.3. Bakteriyel tanı testleri .....	34
3.7. Biyokimyasal Testler.....	35
3.7.1. Oksidaz testi .....	35
3.7.2. Katalaz testi.....	35
3.7.3. İndol testi.....	35
3.7.4. Voges-Proskauers testi .....	35
3.7.5. Metil kırmızı testi .....	36
3.7.6. Sitrat kullanım testi .....	36
3.7.7. Üreaz testi.....	36
3.7.8. Kligler demir agar testi.....	36
3.7.9. Motilite testi .....	36
3.8. Parazit Enfeksiyonu Tanısı.....	37
3.8.1. Fizyolojik tuzlu su çözeltisi ile hazırlanmış sürüntü.....	37

3.9. Maya Tanı Testleri .....	37
3.9.1. Morfolojik ve mikroskobik tanı .....	37
3.9.2. Krom agarda büyüme testi .....	37
3.10. Mayaların Moleküler Tanısı .....	38
3.11. DNA Ekstraksiyonu .....	38
3.12. PCR Veri Analizi .....	40
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>41</b>
4.1. Örneklerin Dağılımı .....	41
4.1.1. Tanımlama.....	42
4.2. Bakterilerin Tanımlanması .....	43
4.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	43
4.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	44
4.2.3. <i>Staphylococcus</i> türleri .....	46
4.3. Parazit Tanısı.....	47
4.4. Maya İzolatlarının Tanımlanması.....	51
4.4.1. Morfolojik ve mikroskobik özellikler .....	51
4.4.2. Chrom agar <i>Candida</i> üzerinde tanı .....	52
4.4.3. 45 °C'de büyüme testi.....	53
4.4.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisi kullanılarak moleküler tanı konulması .....	55
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>57</b>
5.1. Sonuç.....	57
5.2. Öneriler.....	57
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>59</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>81</b>

## TEŞEKKÜR

Büyük bir memnuniyet ve derin bir minnet duygusuyla, danışmanım Prof. Dr. Faruk Selçuk'a en içten teşekkürlerimi sunmak istiyorum; yönlendirme ve sürekli teşviki olmasaydı, bu araştırma başarıyla tamamlanamazdı.

Son olarak, araştırmam sırasında yaptıkları tüm fedakârlıklar ve dualar için ve ayrıca gerektiğinde bana maddi, manevi ve teşvik sağladıkları için aileme en derin şükran duygularımı sunmak istiyorum.

Ocak, 2025

Hasan Shareef ALMUSAWI

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## İRAK DHİ-QAR İLİNDEKİ BEBEKLERDE İSHAL ENFEKSİYONLARININ PATOJENLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan Shareef ALMUSAWI

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Faruk SELÇUK  
Yıl: 2025 Sayfa: 81  
Jüri: Prof. Dr. Faruk SELÇUK  
Doç. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ  
Dr. Öğr. Üyesi Merve ULUKAPI

Bu çalışmanın amacı, Dhi Qar vilayetindeki yenidoğanlarda ishale neden olan çeşitli mikrobiyal türleri (mantar, bakteri ve protozoa) tanımlamaktır. Çocuk Hastanesinde Temmuz ve Ekim 2023 tarihleri arasında ishal semptomları gösteren bebeklerden 110 dışkı örneği alınmıştır. Toplanan bilgiler arasında bebeklerin isimleri, cinsiyetleri, muayene tarihleri ve antibiyotik alıp almadıkları yer almıştır. Bu çalışmada 62'si (%56.4) erkek yenidoğan ve 48'i (%43.6) kız bebek olmak üzere toplam 110 örnek alınmıştır. Bulgular, bakteriyel izolatların toplam izolatların 47'sini (%56.6) oluşturduğunu, maya izolatlarının 15'ini (%18.1) ve parazit izolatlarının 21'ini (%25.3) oluşturduğunu göstermiştir. Son bulgular ayrıca *Escherichia coli* enfeksiyonu prevalansının (%84.2) olduğunu ortaya koymuştur. İshalden muzdarip bebeklerin dışkılarından farklı türlerde üç ayrı izolat elde edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* varlığı (%5.3) oranında tespit edilmiştir. İshalli bebeklerin dışkılarından farklı türlerde altı farklı izolat elde edilmiştir. *Staphylococcus aureus* %10.5'lik bir prevalansa sahiptir. Buna karşılık bulgular, yenidoğanlarda ishale neden olan çeşitli mikrobiyal türlerden biri olan *Entamoeba histolytica*'nın (%25.3) varlığını göstermiştir. *E. histolytica* enfeksiyonunun erkekler arasındaki prevalansı (14/21, %66.7) kadınlardakinden daha yüksektir; durum, erkek olmanın *E. histolytica*'ya yakalanma riskinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. *Candida* türleri maya örneklerinde kültürel ve mikroskopik özelliklerin yanı sıra biyokimyasal testlerin incelenmesi yoluyla tanımlanmıştır. *Candida* ayrıca CHROM-agar *Candida* besiyeri kullanılarak da tanımlanmıştır. Sonuçlar, *Candida* türleri arasında en yüksek prevalans oranının %60.0 ile *Candida albicans*'a ait olduğunu, bunu % 26.7 ile *Candida glabrata*'nın izlediğini ve en düşük oranın ise % 13.3 ile *Candida krusei*'de görüldüğünü göstermektedir. *Candida* mayalarının tanısı altı *Candida* izolatı için PCR teknolojisi kullanılarak doğrulanmıştır. Bu doğrulama gerekli olmuştur çünkü fenotipik kriterlerin belirlenmesine dayanan olağan tanı yöntemleri, *Candida* türleri cinsine ait olanlar da dahil olmak üzere mayaların tanımlanmasında yeterli olmamıştır.

Mevcut çalışmaya göre, ishal vakalarının çoğundan bakteriler, parazitler ve mantarlar gibi çeşitli mikrobik hastalıklar sorumludur. Özellikle, *Escherichia coli* yenidoğanlarda ishalden sorumlu en yaygın bakteri olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Entamoeba histolytica*, *Staphylococcus aureus*

## ABSTRACT

### MASTER'S THESIS

## DETERMINING THE PATHOGENS OF DIARRHEAL INFECTIONS IN INFANTS IN IRAQ DHI-QAR PROVINCE

Hasan Shareef ALMUSAWI

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

Supervisor: Prof. Dr. Faruk SELÇUK  
Year: 2025 Pages: 81  
Juries: Prof. Dr. Faruk SELÇUK  
Assoc. Prof. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ  
Assist. Prof. Dr. Merve ULUKAPI

The purpose of the current study was to identify the various microbial species (fungi, bacteria, and protozoa) that cause diarrhea in newborns in the governorate of Dhi Qar. 110 obtained fecal samples from infants exhibiting symptoms of diarrhea at the Children's Hospital between July and October 2023. The collected information included the infants' names, genders, review dates, and whether they had taken antibiotics or not. The present study had a total of 110 samples, with 62 (56.4%) being male newborns and 48 (43.6%) being female infants. The findings indicated that the bacterial isolates accounted for 47 (56.6%) of the total isolates, while the yeast isolates comprised 15 (18.1%), and the parasitic isolates comprised 21 (25.3%). The latest findings also revealed that the prevalence of *Escherichia coli* infection was 84.2%. Three distinct isolates of different sorts were obtained from the feces of infants suffering from diarrhea. The presence of *Pseudomonas aeruginosa* is detected at a rate of 5.3%. Six distinct isolates of different kinds were obtained from the feces of infants suffering from diarrhea. *Staphylococcus aureus* has a prevalence of 10.5%. Conversely, the findings indicated the presence of *E. histolytica* (25.3%), one of several microbial species that cause diarrhea in newborns. The prevalence of *E. histolytica* infection among males (14/21, 66.7%) was greater than that among females, indicating that being male is associated with a considerably higher risk of contracting *E. histolytica*. *Candida* spp. was identified in yeast samples through the examination of cultural and microscopic features, as well as biochemical assays. *Candida* was also identified using CHROM-agar *Candida* medium. The results indicate that *C. albicans* had the highest prevalence rate of *Candida* spp. at 60.0%, followed by *C. glabrata* at 26.7%, and the lowest rate was seen for *C. krusei* at 13.3%. The diagnosis of *Candida* yeasts was confirmed using PCR technology for six *Candida* isolates. This was necessary because the usual diagnostic methods, which rely on determining phenotypic criteria, were not adequate for identifying yeasts, including those belonging to the *Candida* spp. genus.

According to the current study, various microbial illnesses like bacteria, parasites, and fungi are responsible for the majority of diarrhea cases. Notably, *Escherichia coli* was found to be the most prevalent bacterium responsible for diarrhea in newborns.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Entamoeba histolytica*, *Staphylococcus aureus*

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan laboratuvar ekipmanları.....	27
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları.....	27
<b>Tablo 3.3.</b> Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	28
<b>Tablo 3.4.</b> Çalışmada kullanılan kültür ortamı.....	28
<b>Tablo 3.5.</b> <i>Candida</i> türleri tanısını doğrulamak için kullanılan DNA primerleri ve bunların azotlu baz dizileri.....	29
<b>Tablo 3.6.</b> PCR karışım bileşenleri.....	39
<b>Tablo 3.7.</b> ITS geninin PCR aşamaları için optimum termal koşullar.....	40
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma örneklerinin bulgulara göre dağılımı.....	41
<b>Tablo 4.2.</b> İshalli bebeklerden elde edilen mikrobiyal izolatların sayısı ve yüzdesi.....	43
<b>Tablo 4.3.</b> İzole edilen bakteri yüzdeleri.....	43
<b>Tablo 4.4.</b> İzole edilen gram negatiflerin biyokimyasal testleri.....	47
<b>Tablo 4.5.</b> İzole edilen gram pozitiflerin biyokimyasal testleri.....	47
<b>Tablo 4.6.</b> İzole edilen bakteri yüzdeleri.....	49
<b>Tablo 4.7.</b> Çalışma sırasında izole edilen <i>Candida</i> türlerinin sayısı ve yüzdesi.....	54

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Beş yaş altı çocuklarda ishalin belirleyicileri. ....	11
Şekil 2.2. Solunum yolu enfeksiyonları sırasında <i>P. aeruginosa</i> tarafından kullanılan ana virülans faktörlerinin şematik sunumu. ....	17
Şekil 4.1. İshalli hastalarda bakteriyel, fungal ve parazit yüzdesi. ....	41
Şekil 4.2. MacConkey agar üzerinde <i>E. coli</i> kolonileri. ....	43
Şekil 4.3. API sistemi kullanılarak <i>E. coli</i> bakterilerinin tanılanması. ....	44
Şekil 4.4. MacConkey agar üzerinde <i>P. aeruginosa</i> izolatları. ....	45
Şekil 4.5. API sistemi kullanılarak <i>Pseudomonas</i> bakterilerinin tanılanması. ....	45
Şekil 4.6. Mannitol salt agar üzerinde <i>S. aureus</i> . ....	46
Şekil 4.7. API sistemi kullanılarak <i>S. aureus</i> 'un tanılanması. ....	47
Şekil 4.8. Bebeklerin dışkıсында <i>E. histolytica</i> 'nın kistik evresi. ....	48
Şekil 4.9. SDA besiyerinde (24-48) saat süreyle 37° de <i>Candida</i> türleri kolonileri. ....	51
Şekil 4.10. Gram boyası ile boyanmış <i>C. albicans</i> mayası (a) (100X büyütme altında) (b) laktofenol ile boyanmış (40X büyütme altında). ....	52
Şekil 4.11. CHROM Agar besiyerinde 24-48 saat süreyle 37°C de <i>Candida</i> türleri tanısı. ....	53
Şekil 4.12. <i>Candida</i> türleri ITS genini çoğaltmak için agaroz jel kullanılarak yapılan elektroforez. ....	56

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>AIEC</b>	: Yapışık İnvaziv <i>Escherichia Coli</i>
<b>CAUTI</b>	: Kateterle İlişkili İdrar Yolu Enfeksiyonları
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EAEC</b>	: <i>Shigella</i> , Enteroagregatif <i>Escherichia Coli</i>
<b>EPEC</b>	: Enteroinvaziv <i>Escherichia Coli</i>
<b>ETEC</b>	: Entero Toksikjenik <i>Escherichia Coli</i>
<b>FliC</b>	: Polimerize Flagellin
<b>FliD</b>	: Tipine Özgü Kapak Proteini
<b>HUS</b>	: Hemolitik-Üremik Sendrom
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İYE'ler</b>	: İdrar Yolu Enfeksiyonları
<b>KF</b>	: Kistik Fibrozis
<b>KOAH</b>	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>OM</b>	: Dış Membran
<b>OPS</b>	: O-Polisakkarit
<b>PAIs</b>	: Patojenite Adaları
<b>PVL</b>	: Panton-Valentine Lökosidin
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>Sd1</b>	: <i>S. Dysenteriae</i> Tip1
<b>STEC</b>	: Shiga Toksini Üreten <i>Escherichia Coli</i>
<b>TNF</b>	: Tümör Nekroz Faktörü
<b>TSST</b>	: Toksik Şok Sendromu Toksini
<b>YBÜ</b>	: Yoğun Bakım Ünitesi



## 1. GİRİŞ

İshal, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından en fazla on dört gün boyunca günde üç veya daha fazla gevşek veya sıvı dışkılama olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2013). UNICEF'e (2016) göre ishal sıklıkla gastrointestinal bir hastalığın belirtisidir. Rotavirüs ve *E. coli* bakterileri, sınırlı kaynaklara sahip bölgelerde ishalin başlıca nedenleridir. Bu mikroplar, sağlıklı su ve kontamine gıdaların yanı sıra kişiden kişiye bulaşma yoluyla da yayılmaktadır. Özellikle hijyen uygulamalarının yetersiz olduğu, temiz içme suyu ve sanitasyon tesislerinin sınırlı olduğu ortamlarda yaygındır (Rosenberg, 2007; Null ve ark., 2018; Kakoullis ve ark., 2019). İshal, özellikle yoksul ve orta gelirli ülkelerde ikamet eden 5 yaşın altındaki çocuklar arasında çocuk ölümlerine önemli bir faktör teşkil etmektedir (You ve ark., 2015; Prüss-Ustün ve ark., 2019). 2015 yılında dünya genelinde toplam 5,9 milyon çocuk beş yaşına ulaşmadan hayatını kaybetmiştir ve bu ölümlerin %9'u ishalden kaynaklanmaktadır. Yılda yaklaşık 1,7 milyon ishalleri hastalık vakası meydana gelmekte ve 5 yaşın altındaki yaklaşık 760.000 çocuğun ölümüyle sonuçlanmaktadır (WHO, 2016). Çocuk ishalleri, hane halkı düzeyinde sosyoekonomik, çevresel ve davranışsal risk faktörleri olarak kategorize edilebilecek çeşitli dolaylı risk faktörleriyle bağlantılıdır. Çok sayıda araştırmacı bu risk faktörlerini tanımlamıştır. Söz konusu faktörler annenin yaşı, ikamet yeri, eğitim düzeyi, ailedeki beş yaş altı çocuk sayısı, tuvalet ve içme suyunun mevcudiyeti, sosyoekonomik durum, istihdam durumu ve diğer çeşitli faktörleri kapsamaktadır (Amugsi ve ark., 2015; Kumi-Kyereme ve ark., 2016; Myat ve ark., 2021). Bu risk değişkenleri birbiriyle bağlantılıdır ve birçok nedene bağlı olarak dalgalanabilir. İshalleri hastalıkların nedeni çoğunlukla viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlardan oluşan çeşitli bir spektrumdan kaynaklanmaktadır. Spesifik neden, coğrafi ve iklim koşulları, konakçı özellikleri ve sosyoekonomik koşullar gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir (Hodges ve Gill, 2010). Norovirüs ve rotavirüs dahil olmak üzere viral enfeksiyonların varlığı, 2 yaşın altındaki çocuklarda ishal gelişiminde birincil faktör olarak kabul edilmektedir. Bu patojenler arasında rotavirüs en ölümcül olarak tanımlanmış ve çocuklar arasında en fazla sayıda ölümle sonuçlanmıştır (Tate ve ark., 2016). *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* ve *Cryptosporidium parvum* gibi parazitlerin şiddetli ishal ataklarına neden olduğu belgelenmiştir (Gilchrist ve ark., 2016; Yang ve ark., 2021).

Viral hastalıkların yanı sıra bakteriyel, protozoan veya parazit istilaları da dizanteriye neden olmaktadır. Bu patojenler genellikle ağız yoluyla vücuda girerek, kontamine gıda veya su tüketerek ya da kontamine nesnelere veya ellerle ağız yoluyla

temas ederek kalın bağırsağa ulaşır (Al-Kubaisy ve ark., 2015). *E. histolytica* subtropikal ve tropikal bölgelerde yaygındır. Kolondaki epitel hücrelerine nüfuz ederek kanlı ishale neden olur, mikroabse ve ülser oluşumuna yol açar (Naous ve ark., 2013). Küresel olarak en yaygın üçüncü parazit ölüm nedenidir. Prospektif araştırmalar, *E. histolytica* ile enfekte olan kişilerin %4-10'unda amebik kolit geliştiğini göstermiştir (Edsel Maurice ve ark., 2016).

#### Çalışmanın amaçları

- ❖ Bebeklerde ishale neden olan bakterilerin farklı tanı yöntemleri kullanılarak izolasyonu ve tanımlanması.
- ❖ Bebeklerde ishale neden olabilen parazitlerin laboratuvar yöntemleri kullanılarak teşhis edilmesi.
- ❖ Bebeklerde ishale neden olabilen mantarların seçici besiyerleri kullanılarak teşhis edilmesi.
- ❖ PCR teknolojisi kullanılarak ishale neden olan mantarların saptanması.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. İshal

Çocuklarda ishal, 24 saatlik bir zaman diliminde üç veya daha fazla kez meydana gelen gevşek veya sulu dışkının varlığı veya hastanın normal kıvamına kıyasla dışkının sertliğinde azalma ile karakterize edilir (Mohammed ve ark., 2013). Çocukluk çağı ishal nöbetlerinin çoğu genellikle şiddetli olmamakla birlikte, akut vakalar önemli ölçüde sıvı kaybına ve dehidrasyona neden olabilir. Bu nedenle, ishalin ilk belirtisinin ardından derhal sıvı takviyesi yapılmaması ölümlere veya diğer vahim sonuçlara yol açabilir. Virüsler, protozoa ve bakteriler ishale neden olabilen patojenlerden sadece birkaçıdır (Ahs ve ark., 2010). Gelişmekte olan ülkelerdeki bireyleri etkileyen ve yaşamı tehdit eden çeşitli viral ve bakteriyel patojenler arasında rotavirüs önemli bir patojen olarak öne çıkmaktadır. Akut ishalin birincil kaynağı olup, dünya genelinde beş yaş altı çocuklarda ishal nedeniyle hastaneye yapılan başvuruların yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır (Parashar ve ark., 2006). Başlıca bakteriyel patojenler *E. coli*, *Shigella*, *Campylobacter* ve *Salmonella*'dır (Ahs ve ark., 2010). *Cryptosporidium*, gençlerde en sık izole edilen protozoan patojen olup genellikle HIV pozitif olan bireylerde tespit edilmektedir. Kolera genellikle ishalden kaynaklanan çocuk ölümleriyle ilişkilendirilse de vakaların çoğu aslında yetişkinleri ve daha büyük çocukları etkilemektedir. Dünya Sağlık Örgütü (2008) tarafından belirtildiği üzere *Vibrio cholerae*, Afrika ve Asya gibi çeşitli bölgelerde doğal olarak ortaya çıkmakta ve yaygın salgınlardan sorumlu olmaktadır. Keusch ve ark. (2006)'a göre, etkin vaka yönetimi ve hassas epidemiyolojik takibin gerçekleştirilebilmesi için, ishal vakaları genellikle semptomlara dayalı olarak tanınmakta ve üç ayrı grupta sınıflandırılmaktadır: Kolera gibi akut sulu ishal, enfekte olmuş bir bireyde önemli ölçüde sıvı azalmasına ve derin dehidrasyona yol açan bir durumdur. Genellikle birkaç saat veya gün sürer. Tipik olarak akut sulu ishalle ilişkili patojenler *V. cholerae* ve *E. coli* bakterileri ile rotavirüstür. Dışkıda gözlemlenebilir kan varlığı, kanlı ishal olarak da bilinen dizanteriyi ayırt eder (DuPont, 2008). Bağırsak hasarı ve etkilenen kişide besin maddelerinin tükenmesi ile bağlantılıdır. Kanlı ishalin başlıca sorumlusu olan *Shigella*, aynı zamanda şiddetli atakların ve en az 14 gün süren inatçı ishalin de önde gelen nedenidir. Yetersiz beslenen çocuklar ve AIDS gibi başka rahatsızlıkları olan bireylerin kronik ishal yaşama riski daha yüksek olup, bu durum daha sonra sağlık durumlarını daha da kötüleştirmektedir. (WHO ve UNICEF, 2009).

## 2.2. İshal Yüğü

İshal hastalığının yaygınlığı dünya çapında önemli bir sorundur. Naghavi ve ark. (2017) ishalin hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde yaygın bir pediatrik rahatsızlık olduğunu bildirmiştir. İshal, sanayileşmiş ülkelerde nadiren ölümcül olsa da gelişmekte olan ülkelerde yılda yaklaşık 1,6 milyon çocuğun bu durum nedeniyle hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. Naghavi ve arkadaşlarına (2017) göre, Güney Asya ve Sahra Altı Afrika ülkeleri küresel hastalık yükünün önemli bir kısmını ve çocuklarda ishalle ilişkili ölüm oranlarının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Araştırmalar, ishal enfeksiyonlarının sağlık hizmetlerine erişimin sınırlı olduğu, su ve sanitasyon tesislerinin yetersiz olduğu ve düşük gelirli veya marjinalleşmiş ülkeler üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Troeger ve ark., 2017).

Düşük gelirli bir ülke olan Kenya'da ishal önemli bir halk sağlığı sorunu olmakla birlikte beş yaş altı çocuklar arasında ölüm ve hastalık nedenlerinin ilk onda yer almaktadır. Bu yük, çeşitli çalışmalarda belirtildiği üzere Etiyopya ve Somali gibi diğer Afrika ülkelerinde de yaşanmaktadır (Ayele ve ark., 2014; Fartun ve ark., 2017; Children, 2018; Asfaha ve ark., 2018; Kabew ve ark., 2018). Ayrıca, tekrarlayan ishal atakları, tüm ev işlerinin ve çocuklarının bakımının sorumluluğunu taşıdıkları için birincil anneler veya bakıcılar üzerinde maddi ve psikolojik bir baskı oluşturabilir. Bakıcıların yoğun bakım ünitesindeki iş yüküne ilişkin görüş ve algılarını değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışma, çalışma saatlerinin yaklaşık %30'unun evlerindeki dışkı maddelerini temizlemeye ayrıldığını ortaya koymuştur. Anket, katılımcıların %70'inin ishali temizlemek için ikiden fazla bakıcının yardımına ihtiyaç duyduğunu ve %69'unun bu yardımın genellikle mevcut olduğunu belirttiğini ortaya koymuştur. Ne yazık ki, personelin incelenmesi, mesailerinin yaklaşık %50'sini ishal vakalarını temizlemek için harcarken ciddi bir hayal kırıklığı yaşadıklarını ortaya koymuştur (Heidegger ve ark., 2016). Ayrıca ishal, hastalığın yönetimiyle ilişkili mali yüklerin artması nedeniyle evlerde stres ve gerginliğe yol açabilir. Ruanda'da yapılan bir çalışma, ishal nedeniyle bir çocuğun hastaneye yatırılmasının mali etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışma, ishal nedeniyle hastaneye yatışla ilişkili mali yükün büyük kısmının haneler tarafından üstlenildiğini ve bu yükün özellikle en düşük gelir grubundaki haneler için önemli olabileceğini ortaya koymuştur (Ngabo ve ark., 2016). Dahası, ishalin karmaşıklığı ve tedavisiyle ilgili artan masraflar sağlık sektörünü daha da zorlamaktadır.

Bu olgu, rotavirüs gastroenteritinin yönetimi ve tedavisi ile ilgili masrafların önemli boyutlarda olduğu Kenya gibi ülkelerde yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur.

Buna ek olarak, rotavirüs ishalinin ortaya çıkması, sağlık tesislerinde ve bir bütün olarak toplumda önemli miktarda kaynak kullanımına neden olmaktadır (Osano ve ark., 2011). Dahası, 5 yaşın altındaki çocuklarda ishal, büyümenin durmasına ve belki de kalıcı bozukluklara neden olabilir. Çocukluk çağı ishalinin ölümcül olmayan sonuçlar üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışma bunu desteklemektedir. Çalışma, ishalin bölgede daha sonraki fiziksel büyüme ve bilişsel gelişim bozukluğu olasılığını önemli ölçüde artırdığını ortaya koymuştur (Khalil ve ark., 2016). Bunun nedeni, yetersiz beslenen çocuklarda tekrarlanan ishaller hastalık ataklarının bağırsakların işleyişini olumsuz etkileyebilmesidir. Ayrıca, kronik ishalin beslenme durumu, büyüme ve bilişsel yetenekler üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceği keşfedilmiştir (Ochoa ve ark., 2004). Ek veriler, çocukluk çağı ishalinin, özellikle de yaşamın ilk iki yılında, besinlerin emilimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabileceğini ve bunun da yetersiz fiziksel büyümeyle sonuçlanabileceğini göstermektedir (Steinhoffa, 2018; Kassebaum ve ark., 2019).

### 2.3. İshale Neden Olan Başlıca Etkenler

Metabolik hatalar, kimyasal iritanlar veya organik bozukluklar birçok ishal vakasından sorumlu olabilir de vakaların çoğunda ana neden enfeksiyöz mikroorganizmalardır (Gracey, 2006).

**Bakteriyel enfeksiyonlar:** İshale yol açan enterik bakteriyel enfeksiyonlar, özellikle tropikal ve yoksul ülkelerde önemli bir küresel sorundur. Bu sorun sadece yeni doğanları ve küçük çocukları değil, aynı zamanda daha büyük çocukları ve yetişkinleri de etkilemektedir. Etken patojenlerin spektrumu *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Vibrios* ve *Clostridium difficile*'yi kapsayacak şekilde geniştir (Gracey, 2006).

**Viral enfeksiyonlar:** Rotavirüs, şiddetli ishalin yaygın bir etiyolojisidir. Norwalk virüsü, Norwalk benzeri virüsler, enterik adenovirüsler, kalisivirüsler ve astrovirüsler gibi ek virüsler de insanlarda ishal hastalığına önemli katkıda bulunabilir (Gracey, 2006).

**Parazitler:** Parazitler, kontamine yiyecek veya içeceklerin yutulması yoluyla vücuda sızma ve nihayetinde sindirim sistemine yerleşme yeteneğine sahiptir. İshale neden olan parazitler *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora catagenesis* ve *Cryptosporidium*'dur.

**Gıda intoleransları:** Bazı bireyler laktoz (sütte bulunan şeker) veya gluten (buğday ve arpada bulunur) gibi belirli gıda bileşenlerini sindirmekte zorluk yaşarlar.

**İlaçlara karşı reaksiyonlar:** Klindamisin, sefalosporinler ve sülfonamidler gibi belirli antibiyotik türlerinin yanı sıra laksatifler ve antiasitler.

**Bağırsak hastalıkları:** İnflamatuar bağırsak hastalığı veya çölyak hastalığı gibi.

**Fonksiyonel bağırsak bozuklukları:** Örneğin, bağırsakların işleyişinin anormal olduğu irritabl bağırsak sendromu gibi durumlar (Gracey, 2006).

## 2.4. İshal Türleri

İshal, altta yatan mekanizmaya bağlı olarak dört ana kategoride sınıflandırılabilir: ozmotik ishal, sekretuar ishal, eksüdatif ishal ve motilite problemlili ishal. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve (Banerjee ve ark., 2003) tarafından yapılan çalışmalar, klinik sendromlara dayalı olarak dört farklı ishal türü tanımlamıştır. Bu tipler akut sulu ishal, dizanteri, inatçı veya uzun süreli ishal ve kronik ishaldir. Her bir tip, altta yatan farklı bir nedeni veya mekanizmayı temsil etmektedir.

### 2.4.1. Akut sulu ishal

Bu terim, görünür kan içermeyen ve genellikle iki haftadan kısa süren sık, sulu, gevşek dışkıların ani başlangıcı ile karakterize edilen akut ishali tanımlamaktadır. Tipik olarak, akut sulu ishal vakaları başladıktan sonra 72 saat içinde düzelir. Aşırı gaz, genel rahatsızlık ve karın ağrısı buna eşlik edebilir. Hastalarda bulantı, kusma ve ateş görülebilir. Viral, bakteriyel ve paraziter hastalıklar akut sulu ishali ortaya çıkmasına neden olan başlıca faktörlerdir. Bakteriler de gıda kaynaklı akut hastalıklara neden olabilir. Az gelişmiş ülkelerde ishal oluşumundan sorumlu enterik mikroorganizmalar, dağılımları farklılık gösterse de çoğunlukla zengin ülkelerde bulunanlarla aynıdır. Tipik olarak, bakteriyel enfeksiyonlar yetersiz hijyenik koşullarla karakterize edilen ülkelerde daha büyük öneme sahiptir. Yoksul ülkelerdeki başlıca ishal etiyolojileri Rotavirüs, Shigellae, Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), *Salmonella* türleri ve *Cryptosporidium*'dur (Vesikari ve ark., 1994).

Vücuttan aşırı sıvı ve elektrolit kaybından kaynaklanan dehidrasyon en tehlikeli komplikasyondur. Kusma dehidrasyonun şiddetini artırır. Dehidrasyon, hızlı vücut suyu döngüsü, yüksek vücut suyu içeriği ve nispeten daha geniş vücut yüzey alanı nedeniyle yenidoğanlar ve küçük çocuklar için önemli bir risk oluşturmaktadır. Hafif dehidrasyon gösteren bireyler sadece susuzluk hissi ve ağız boşluğunda kavrulma ile karşılaşabilir. Ortostatik hipotansiyon, senkop, idrar çıkışında azalma, şiddetli halsizlik, şok, böbrek

yetmezliği, konfüzyon, asidoz ve koma orta ile Şiddetli dehidrasyonun potansiyel sonuçlarıdır (Molbak, 2000).

#### 2.4.2. Dizanteri

Dizanteri, dıŐkıda kan ve mukus bulunması ve bunun ishale yol aąması ile karakterize edilir. Hastalık karın krampları, ateŐ ve rektal ađrı ile karakterizedir. *Shigella* kanlı ishali birincil nedeni olup, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* ve *S. sonnei* olmak üzere dört türden oluŐan bir bakteri cinsidir: Yoksul ũlkelerdeki dizanterinin baŐlıca etiyolojik ajanları *S. flexneri*, *S. boydii* ve *S. dysenteriae* iken, *S. sonnei* sanayileŐmiŐ ũlkelerdeki baskın nedendir (Abram, 2005). *S. dysenteriae* tip 1 (Sd1) Őigelloz salgınlarına neden olur. *S. dysenteriae* tip 1 uzun süreli ishal, septisemi, rektal prolapsus ve hemolitik ũremik sendrom (HũS) gibi ciddi sonuçlara yol aąabilir. Hemolitik ũremik Sendrom (HũS) hem bŕbrekleri hem de kan pıhtılaŐma sistemini etkileyen ciddi bir tıbbi bozukluktur. *S. flexneri*, *S. boydii* ve *S. sonnei* genellikle *S. dysenteriae* tip 1'den daha az virũlan olup geniŐ ąaplı salgınlara yol aąmazlar (Waldman ve ark., 2004).

Ampirik veriler, beŐ yaŐın altındaki ąocuklarda gŕrũlen ishal vakalarının yaklaŐık yũzde 10'unda dıŐkıda gŕzlemlenebilir kan olduğunu gŕstermektedir. Yũzde 10'unu oluŐturan bu olaylar, bu yaŐ aralığında ishale bağlı ŕlũmlerin yaklaŐık yũzde 15'ine neden olmaktadır. Bebekler, yaŐlılar ve dũŐũk kilolu kiŐilerin *S. dysenteriae* tip 1 enfeksiyonuna yakalanma olasılığı daha yũksektir. Bu gruplar aynı zamanda en yũksek ŕlũm oranlarına sahiptir. ąocuklarda endemik dizanteriden sorumlu diğer bakteriler arasında *Campylobacter jejuni*, invaziv *E. coli* suŐları (EIEC), tifo olmayan *Salmonella* suŐları ve *E. histolytica* yer almaktadır (Waldman ve ark., 2004). Tipik olarak *Entamoeba histolytica*, 5 yaŐın altındaki ąocuklarda gŕrũlen kanlı ishal vakalarının yũzde 2'sinden daha azından sorumludur (WHO, 1999).

#### 2.4.3. İnatąı ishal

Molbak'a (2000) gŕre inatąı ishal, en az 14 gũn sũren ve bulaŐıcı bir ajanın sonucu olduđuna inanılan uzun süreli ve inatąı ishal atakları ile karakterize edilir. GeliŐmekte olan ũlkelerde yaŐayan ąocuklardaki ishal vakalarının yaklaŐık %10'u, ŕzellikle ũą yaŐın altındakiler ve bebekler arasında ąok daha fazla olmak üzere, inatąı bir yapı sergilemektedir. İshal, sulu ishal ya da dizanteri ile aniden baŐlayabilir. Bu ishal durumu, bireylerin ąođunda ŕnemli ŕląũde kilo kaybına neden olur. İshalin neden olduđu tũm ŕlũmlerin %30 ila %50'sinden potansiyel olarak sorumludur. Sũrekli ishali yoksul

ülkelerde yetersiz beslenmeye yol açan birincil faktör olduğu göz önüne alındığında, daha az şiddetli ve ölümcül olmayan ishal vakaları bile bu ülkelerde genellikle yetersiz beslenmeyle bağlantılı olan sürekli yüksek ölüm oranlarına neden olmaktadır. Kronik ishalin etiyojisi tam olarak anlaşılammıştır. Soruna neden olabilecek şeylerden bazıları enteroagregatif *E. coli* (EAggEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC) ve *Cryptosporidium* enfeksiyonları, gıda intoleransları, kötü beslenme veya A Vitamini veya çinko eksikliği nedeniyle iyileşmesi uzun süren hasarlı bağırsaklar, yeterli bağışıklık hücrelerine sahip olmamak (kronik ishale neden olabilen Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AIDS) olmamak) ve antibiyotikleri doğru kullanmamaktır (Vesikari ve ark., 1994).

#### **2.4.4. Kronik ishal**

Kronik ishal olarak bilinen durum, öncelikle bulaşıcı olmayan nedenlere bağlı olarak tekrarlayan veya uzun süreli gevşek dışkı atakları ile karakterizedir. Gastrointestinal hastalık, sistemik hastalık veya psikojenik faktörlerin hepsi potansiyel olarak kronik ishale neden olabilir (Vesikari ve ark., 1994). Kronik ishal, altta yatan nedenlere göre farklı kategorilerde sınıflandırılabilir. İnflamatuvar ishal, bölgesel enterit ve ülseratif kolit gibi hastalıklardan kaynaklanır. Diğer tipler ozmotik veya malabsorptif ishal olup laktoz intoleransı, tropikal sprue, çölyak hastalığı, Whipple hastalığı, kronik pankreatit ve safra kanalı tıkanıklığı gibi durumlardan kaynaklanır. Son olarak, salgı isheline ilaçlar, bağırsak rezeksiyonu veya mukozal hastalık neden olur. Son olarak, dismotilite isheline diyabetik nöropati veya irritabl bağırsak sendromu gibi durumlar neden olur. Gastrointestinal bozukluklar sık ve gevşek bağırsak hareketleri ile karakterizedir (Armon ve ark., 2001).

#### **2.5. İshal Risk Faktörleri**

Çocukluk çağı ishalinin ortaya çıkması üzerindeki etkilerini belirlemek için çeşitli faktörler değerlendirilmiştir. Bu faktörler genel olarak sosyo-ekonomik (annenin yaşı, çocuk sayısı, meslek durumu, hane halkı büyüklüğü ve eğitim düzeyi gibi), çevresel (içme suyu kaynakları, banyo olanakları ve su arıtma gibi) ve davranışsal (biberonla besleme ve sabunla el yıkama gibi) olarak sınıflandırılabilir. Birçok çalışma, sosyoekonomik faktörlerin çocukluk çağı ishalinin ortaya çıkmasında önemli bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Pakistan, Mogadişu ve Somali'de yapılan çalışmalar, yüksek eğitimli annelere veya bakıcılara sahip çocukların, su ve sanitasyon tesislerinin kalitesinden bağımsız olarak daha düşük bir ishal prevalansı sergilediğini göstermiştir. Bu durum,

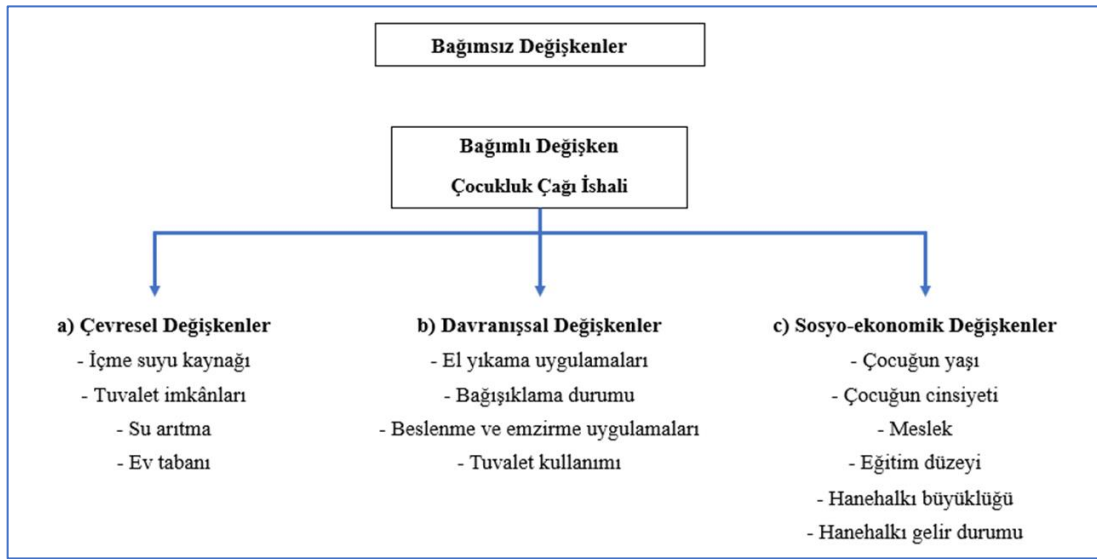
uygun hijyen uygulamaları ve doğru beslenme teknikleri konusundaki üstün bilgilerine bağlanabilir (Afzal, 2017). Ayrıca, Gana ve Kenya'da yapılan bir araştırma, eğitimsiz annelere kıyasla orta eğitimli anneler arasında çocukluk çağı ishalinin yaygınlığında kayda değer bir düşüş olduğunu ortaya koymuştur (Asfaha ve ark., 2018). Etiyopya'da yapılan bir araştırma, anneleri veya bakıcıları örgün eğitimden yoksun olan 5 yaşın altındaki çocukların, anneleri örgün eğitim almış olan çocuklara kıyasla ishal yaşama olasılığının 3,97 kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, (Connell ve ark. 2017) tarafından yapılan ve annelerin eğitim seviyesinin çocukluk çağı ishalinin oluşumunu belirlemede önemli bir rol oynadığını gösteren araştırma ile uyumludur. Annenin veya bakıcının mesleki durumu, çocukluk çağı ishalini etkileyen bir diğer önemli sosyoekonomik faktör olarak tanımlanmıştır. (Afzal 2017) tarafından Pakistan'da yapılan bir araştırmaya göre, ev hanımları çalışan annelere kıyasla doğru beslenme uygulamalarına daha istikrarlı bir şekilde uymaktadır. Bunun nedeni, çalışan annelerin sağlıklı ve besleyici yemekler hazırlamak için yeterli zaman ayırmakta zorlanabilmeleridir. Sonuç olarak, çocukları için önceden paketlenmiş yemekleri tercih edebilirler, durum da bağışıklık sistemlerini zayıflatarak onları ishal ve diğer enfeksiyonlara karşı daha savunmasız hale getirebilir. Beş yaşın altındaki çocuklarda ishal görülme sıklığının azalmasında önemli belirleyiciler olduğu tespit edilen diğer sosyo-demografik faktörler ise daha yüksek hane geliri, çocuğun yaşı ve çocuğun cinsiyetidir (Mamboleo ve ark., 2016). Ayrı bir çalışma, çocukların cinsiyetinin ve yaşının ishal oluşumunu belirlemede çok önemli bir role sahip olduğunu ortaya koymuştur. Birçok çalışma, çevresel faktörler ile çocukluk çağı ishalinin oluşumu arasında bir korelasyon olduğunu ve bu faktörlerin müdahale değişkenleri olarak hareket ettiğini keşfetmiştir.

Korunmayan içme suyu kaynakları, birçok çalışmada gösterildiği üzere, daha yüksek ishal görülme olasılığı ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Getu ve ark., 2014; Id ve ark., 2018). Bunun nedeni, korumasız su kaynaklarının yüzey akışından kaynaklanan kirlenmeye açık olması ve suyu biyolojik olarak tüketim için güvensiz hale getirmesidir. Ayrı bir araştırma, yağmur suyu ve sığ kuyuları kullanan çocuk bakım tesislerinde ishalleri hastalıkların %86.7 oranında görüldüğünü ortaya koymuştur (Mamboleo ve ark., 2016). Önceki araştırmalar, hanelerde tuvalet bulunmasının çocukluk çağı ishallerinin görülme sıklığını azaltabileceğini ortaya koymuştur (Getu ve ark., 2014; Id ve ark., 2018). Gana'da yapılan bir araştırma, kapalı tuvaleti olan hanelerde ikamet eden çocukların ishalleri enfeksiyonlara yakalanma olasılığının, açık tuvalet kullananlara

kıyasla %50 daha düşük olduğunu ortaya koymuştur (Hung, 2006). Etiyopya'nın Dale bölgesinde yapılan bir araştırma, çöpleri uygunsuz şekilde bertaraf eden hanelerdeki 5 yaş altı çocukların, çöpleri uygun şekilde bertaraf eden hanelerdeki çocuklara kıyasla ishal olma olasılığının 3,23 kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Melese ve ark., 2019). Bunun nedeni, çöplerde ishali rahatsızlıklara yol açabilen ve böceklerin üremesi için uygun bir ortam sağlayan çeşitli patojenlerin bulunmasıdır. Atıkların uygunsuz şekilde bertaraf edilmesi, böcek vektörlerinin gıda ürünleriyle temas etme riskinin artmasına neden olabilir ve bu da tüm ailenin genel sanitasyon ve hijyenini kötüleştirir. Birçok çalışma anne temizliği, davranışsal faktörler ve çocukluk ishalinin görülme sıklığı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Örneğin Kenya'da yapılan bir çalışmada, tuvaleti kullandıktan sonra sabunla el hijyeni uygulamanın ishali hastalıkların görülme sıklığını önemli ölçüde azalttığı ortaya çıkmıştır (Mamboleo ve ark., 2016). Etiyopya'nın Dejen Bölgesi'nde yapılan bir araştırma, anneleri sadece suyla el yıkayan çocukların ishali hastalıklara yakalanma olasılığının, anneleri el yıkamak için su ve sabun ya da kül kullanan çocuklara kıyasla neredeyse iki kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Getu ve ark., 2014). Arba Minch'te yapılan bir çalışmada, çocukluk çağındaki ishali hastalıklar ile yetersiz el hijyeni alışkanlıklarına sahip anneler arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (Mohammed ve ark., 2014). Çocuk aşılmasının çocukluk çağı ishalinin görülme sıklığı üzerinde önemli bir etkisi olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır. Ruanda'nın Nyarugenge bölgesinde yapılan bir çalışma, rotavirüs aşısı olmayan çocukların aşı olanlara kıyasla ishali hastalıklara yakalanma riskinin sekiz kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Habtu ve ark., 2017). Ayrıca, bir evde zemin döşemesi için kullanılan malzemenin türünün bebek ishali olasılığı üzerinde önemli bir etkisi olduğu keşfedilmiştir.

Etiyopya'nın Dale bölgesinde yapılan bir araştırma, 5 yaşın altındaki çocuklarda ishal vakalarının çamur zeminli ailelerde çimento zeminli ailelere kıyasla 3.22 kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (Melese ve ark., 2019). Bunun nedeni, çimento zeminli evlerin hijyenik bir yaşam ortamı olarak görülmesine bağlanabilir. Etiyopya'nın Zana bölgesinde yapılan bir çalışma, çocuk besleme uygulamaları ile çocukluk çağı ishali arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir. Çalışma, sadece anne sütüyle beslenmeyen ve 6 aylıktan sonra tamamlayıcı beslenmeye başlayan çocukların, diğer çocuklara kıyasla sırasıyla beş kat ve iki kat daha fazla ishal riski altında olduğunu belirlemiştir (Asfaha ve ark.2018). Bu bulgular, Etiyopya'nın Mecha Bölgesi'nde yapılan önceki çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir (Habtu ve ark., 2017). Şekil 2.1,

çocukluk çağı ishali üzerinde etkisi olduğu bildirilen unsurlara kısa bir genel bakış sunmaktadır.



**Şekil 2.1.** Beş yaş altı çocuklarda ishalin belirleyicileri.

## 2.6. Mevcut Çalışmada İncelenen Mikroorganizmalar

### 2.6.1. *Escherichia coli*

İshalli hastalıklar, özellikle 5 yaşın altındaki çocuklarda olmak üzere, küresel çapta önemli bir ölüm nedenidir (Croxen ve ark., 2013). Hastalık mekanizmasına ve virülans faktörlerinin varlığına dayalı olarak tanımlanmış yedi ishal yapıcı *E. coli* sınıfı vardır. Bu sınıflar arasında enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enterohaemorajik *E. coli* (EHEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), *Shigella*'yı da içeren enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), diffüz olarak yapışık *E. coli* (DAEC) ve yakın zamanda ortaya çıkan yapışık invaziv *E. coli* (AIEC) yer almaktadır (Jafari ve ark, 2012; Allocati ve ark., 2013; Martinez-Medina ve Garcia-Gil, 2014).

İshale neden olan tüm *E. coli* türleri arasında insan hastalıkları açısından en önemlisi Shiga-toksin veya Vero toksin üreten EHEC/STEC'dir (Wani ve ark., 2003). STEC'in (Shiga toksini üreten *E. coli*) birçok türü bulunmakla birlikte, EHEC'in (enteromorajik *E. coli*) O157:H7 türü en tehlikeli olanıdır. Bu serotipin dünya çapında yaygın kanlı ishal ve hemolitik üremik sendrom (HUS) vakalarına neden olduğu bilinmektedir. Ruminantlar, *E. coli* O157:H7 için doğal rezervuar konakları olarak hizmet vermektedir (Nataro ve Kaper, 1998; Wyrsh ve ark., 2020). Goldwater ve Bettelheim'a (2012) göre, EHEC'in neden olduğu enfeksiyonlar için etkili bir tedavi bulunmamaktadır. EHEC için mevcut bir tedavinin olmaması, salgınlar sırasında epidemiyoloji, patoloji ve

kontrol stratejileri üzerinde çalışmaya odaklanma ihtiyacını vurgulamaktadır. Patojenik *E. coli*, hasta hayvanların ve insanların dışkılarıyla atıldıkları için su ve toprak gibi kirli ortamlarda bulunabilir. Hayvansal ürünlerin kontaminasyonu, kesim ve pansuman süreci boyunca yanlış uygulamaların bir sonucu olarak, özellikle de bağırsak içeriğinin ve iç organların çıkarılmasından sonra dışkının varlığından kaynaklanabilir (Al-Mustapha ve ark., 2020).

#### 2.6.1.1. Epidemiyoloji

Her bir patojenik *E. coli*'nin epidemiyolojisinin, *E. coli*'nin spesifik türlerine ve suşlarına bağlı olarak farklılık gösterdiği ortaya konulmuştur. Bu patojenik *E. coli* suşlarının tespiti farklı hayvan rezervuarlarında gözlemlenmiş ve hem hayvanların içinde hem de diğer hayvanlar arasında bulaşmıştır (Croxen ve ark., 2013).

Çeşitli epidemiyoloji çalışmaları, farklı coğrafi bölgeler, popülasyonlar, yaş grupları, sosyoekonomik sınıflar ve tespit teknikleri arasında yaygınlık oranlarındaki değişiklikleri etkileyen çok sayıda faktör belirlemiştir (Ochoa ve ark., 2008). Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) epidemiyolojisi çok dikkat çekmiş ve özellikle O157:H7 serotipinin bulunması söz konusu olduğunda araştırmacılar tarafından çok önemli görülmüştür. Bununla birlikte, O157 olmayan diğer suşların da Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa gibi çeşitli bölgelerdeki çok sayıda salgında önemli bir rol oynadığını belirtmek gerekir (Angulo, 2007; Kumar ve ark., 2018).

EHEC'in neden olduğu hastalıkların ciddiyetinin bir sonucu olarak, hastalığın yayılmasını izlemek ve kontrol etmek için mekanizmalar uygulanmıştır. Bu eylemlerden biri, hızlı salgınlar durumunda gerekli bilgileri toplamak ve yaymak için tasarlanan PulseNET adlı özel bir programın başlatılması olmuştur. PulseNET ağı şu anda Sahra-altı Afrika dışında tüm dünyada erişilebilir durumdadır (Swaminathan ve ark., 2001). PulseNET verilerine göre 2011 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde rapor edilen EHEC vakalarının sayısı 984'tür. Bu vakalardan 463'ü özellikle O157:H7 serotipine ait olmakla beraber, ölümler de bildirilmiştir (Allos ve ark., 2004). Kanada'da, bildirilen genel EHEC vakaları son on yılda nispeten sabit kalmasına rağmen, O157:H7 insidansı 2010 yılında 2005 yılına kıyasla azalmıştır. (Ulusal Enterik Sürveyans Programı, 2010).

#### 2.6.1.2. Bulaşma

Hayvan dışkısı, patojenik *E. coli*'nin birincil rezervuarı olarak kabul edilmektedir. Çiftliklerdeki hayvanların yakınlığı, hastalıkların diğer hayvanlara aktarılmasına neden

olabilir (Karch ve ark., 2005). Hayvan dışkı, tarımsal atıklar ve gübre ve çamur gibi organik gübreler, genellikle mahsul gübreleme ve silaj üretimi için kullanılır ve sığırların otlatma, sığırlarda enfeksiyonların bulaşmasına ve tekrarlanmasına katkıda bulunur (Milinovich ve ark., 2011). Shiga toksini üreten *E. coli*'nin (STEC) topraktaki varlığı ve dayanıklılığı, sığırlardaki enfeksiyonları artırmakta ve çevredeki varlıkları insan enfeksiyonları için de tehlike oluşturmaktadır (Howie ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2020).

Kötü kesim ve işleme teknikleri, hastalıklı hayvanların etinin yanı sıra ette de patojenik *E. coli* varlığına neden olabilir. Ayrıca, çiftlik personelinin sağlıklı faaliyetleri, patojenin sağım işlemi sırasında süte bulaşmasına neden olabilir.

Kontamine olmuş çiğ veya az pişmiş sığır etinin tüketilmesi ve pastörize edilmemiş süt veya arıtılmamış su içilmesi, patojenik *E. coli*, özellikle de serotip O157 ile enfeksiyona neden olabilir (Karch ve ark., 2005). EPEC; sebzeler, peynir, ton balığı, patates ve makarna salataları gibi enfekte gıda maddelerinin yanı sıra arıtılmamış su yoluyla da bulaşabilir. Ayrıca, çocuklar arasında oyuncaklar, kauçuk meme uçları ve fomitler yoluyla da bulaşma gerçekleşebilir. Gıda, EAEC için bir bulaşma aracı olarak hizmet edebilir. DAEC'nin bulaşma şekli henüz belirlenmemiştir (Jianghong ve Carl, 2007). Patojenik *E. coli* enfeksiyonları, kötü hijyen uygulamaları nedeniyle bireyler arasında bulaşabilir. Virüsün bulaşması bir topluluk içinde, çoğunlukla aileler ve yakın temaslılar arasında, özellikle gençler arasında oral yolla gerçekleşebilir (Karch ve ark., 2005; Pakbin ve ark., 2021). Salgın, hastalığın hastalardan aile üyelerine aktarılmasına bağlanmıştır (Parry, 1998). Patojenik *E. coli*'nin çocuklara bulaşması genellikle çiftliklerdeki, hayvanat bahçelerindeki veya hayvan dışkısıyla kirlenmiş ortamlardaki enfekte hayvanlarla doğrudan etkileşimleri yoluyla gerçekleşir. Enfeksiyonlar, çocuklar da dâhil olmak üzere uygun el hijyeni uygulamayı ihmal eden bireylerde ortaya çıkabilir (CDC, 2009). Hükümet düzenleyici makamları, çevreciler, plaj yöneticileri ve kanalizasyon operatörleri *E. coli*'nin varlığı konusunda alarma geçmiştir. Sudaki *E. coli* kontaminasyonu çiftlikler, vahşi hayvanlar, su kuşları ve evcil hayvanlar da dahil olmak üzere hem insan hem de insan dışı kaynaklardan gelebileceğinden, su yönetimi için uygun risk değerlendirmesi ve kontrol önlemlerinin uygulanması gerekmektedir (Harwood ve ark., 2000).

#### 2.6.1.3. Virülans faktörleri ve genetiği

Virülans, bakterilerin hastalığa neden olma kapasitesini ifade etmekte ve patojenitelerinin nicel bir ölçüsü olarak hizmet etmektedir. *E. coli* türleri, bakterilerin

enfeksiyon ve hastalığa neden olmasını sağlayan çok sayıda virülans özelliğine sahip olup, idrar yolu enfeksiyonları (İYE) bu koşullar arasında en önemlisidir. Patojenite adaları (PAI), belirli bakteri türlerinin bağışıklık sisteminden saklanabildiği ve hastalığa neden olabildiği yerlerdir. Bu mümkündür çünkü hastalıkları kodlayan genlere sahiptirler. Adalar 10-200kb arasında değişen boyutlar sergiler ve G+C konsantrasyonundaki varyasyonları nedeniyle genomun diğer bölgelerinden ayrılırlar. Patojenik *E. coli* suşları, patojenik olmayan suşlara kıyasla daha fazla patojenite adası (PAI) sergiler.

Bu PAI'ler adezyon proteinleri, toksinler, sideroforlar, kapsüller, lipopolisakkaritler ve enzimler dahil olmak üzere birçok virülans faktörünün üretilmesinden sorumludur. (Parvez ve Rahman'a 2018) göre, bu bileşenlerin her biri, onu kodlayan kendi gen setine sahiptir. Sürekli evrim geçiren yeni *E. coli* suşları, mutasyonlar, gen çoğalması ve yatay gen transferi gibi mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır. *E. coli* suşları tipik olarak yaklaşık 4.1 Mb'lik bir genetik omurgaya sahiptir. Bununla birlikte, patojenik *E. coli* suşları, yatay gen transferi süreci yoluyla, ek genetik materyal edinebilir ve bu da commensal *E. coli*'ninkinden 1 Mb'ye kadar daha büyük genomlarla sonuçlanabilir. Bu genişlemiş genom, patojenik suşları farklı konakçılarda çeşitli hastalıklara neden olma kabiliyetiyle donatır (Frankel ve Ron, 2018). Bir bakteri olan *E. coli*, DNA'sını bakteriyel konjugasyon olarak bilinen bir süreç yoluyla aktarabilmektedir. Bu, genetik materyalin yatay gen transferi yoluyla bir bakteriden diğerine aktarılmasını içerir. *E. coli*, genetik materyalini aktarmanın bir yolu olarak transdüksiyonu kullanabilir. Bu, genlerinin bir bakteriyofajın genomu ile rekombinasyonunu içerir ve daha sonra farklı bir bakteride başka bir enfeksiyon döngüsü başlatır (Nair ve ark., 2019; Riedel ve ark., 2019).

### **2.6.2. *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa*, sağlık hizmeti ortamlarında, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde edinilen enfeksiyonlarda önemli bir rol oynamaktadır. Kistik fibrozis (KF), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) veya sağlık hizmeti ile ilişkili pnömonisi olanlar da dahil olmak üzere çeşitli popülasyonlarda, bu patojenin enfeksiyonları ciddi hastalık ve ölümlerle ilişkilidir (Wunderink ve ark. 2017; Garcia-Nuez ve ark. 2017; Riquelme ve ark. 2020).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından "kritik" bir hastalık olarak sınıflandırılmaktadır, bu durum da onunla mücadele etmek için yeni antibiyotiklerin

araştırılmasına ve geliştirilmesine acil ihtiyaç olduğu anlamına gelmektedir (Kubes ve ark. 2019; Botelho ve ark. 2019). Çeşitli ve fırsatçı bir organizma olan *P. aeruginosa* hem akut hem de kronik enfeksiyonlara neden olma yeteneğine sahiptir. *P. aeruginosa*'nın patojenik özellikleri, genomunda bulunan geniş ve çeşitli virülans faktörleri ve antibiyotik direnç genleri koleksiyonundan kaynaklanmaktadır. Bu genetik unsurlar, bakteriye büyük bir metabolik esneklik ve konağın bağışıklık sisteminin zayıf olduğu ortamlar da dahil olmak üzere birçok ortamda başarılı olma yeteneği kazandırmaktadır (Francis ve ark., 2017; Maurice ve ark., 2018).

*P. aeruginosa*-konak etkileşimlerinin anlaşılması sınırlı kalmakta, bu da etkili ilaç ve aşıların geliştirilmesinde ilerlemeyi engellemektedir. Yarım yüzyıla yayılan özel bir araştırma çabasına rağmen, yakın zamanda değerlendirildiği gibi, şu anda bu hastalıkları önlemek için uygulanabilir bir aşı bulunmamaktadır (Sainz-Mejías ve ark. 2020).

#### 2.6.2.1. Epidemiyoloji

*P. aeruginosa*, pnömoni, cerrahi bölgelerdeki enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları ve kan dolaşımı enfeksiyonları şeklinde ortaya çıkan hastane kaynaklı enfeksiyonların yaygın bir kaynağıdır. Weiner'a (2016) göre, *P. aeruginosa*'nın tüm sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar arasındaki sıklığının %7,1 ile %7,3 arasında olacağı tahmin edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonu en sık akciğerlerde görülür ve pnömoniyeye neden olur. Hastane kaynaklı pnömoni vakalarında bulunan baskın Gram-negatif bakteri olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsidansı son on yılda artış göstermektedir (Parker, 2008). *P. aeruginosa*, yoğun bakım ünitesindeki (YBÜ) hastalarda sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların daha büyük bir bölümünden sorumludur. Yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hastalarda görülen enfeksiyonlar üzerine yapılan kapsamlı bir küresel çalışmada, *P. aeruginosa*'nın tüm enfeksiyonların %16,2'sini oluşturduğu ve YBÜ'de edinilen tüm enfeksiyonların %23'ünden sorumlu olduğu keşfedilmiştir. Solunum sistemi, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının birincil kaynağı olarak tanımlanmıştır (Vincent, 2020). Sağlık hizmetiyle ilişkili pnömoni (HAP) ve ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP), sağlık sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturmakta ve hastane ortamlarında edinilen tüm enfeksiyonların %22'sine neden olmaktadır (Kalil, 2016). *P. aeruginosa*, ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP) vakalarındaki izolatların %10-%20'sini temsil etmekte olup *Staphylococcus aureus*'tan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Diğer yaygın bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında, hastane ortamında ortaya çıkan ve *P. aeruginosa*'nın neden olduğu pnömoni daha kötü sonuçlarla ilişkilidir

(Planquette, 2013). *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ventilatörle ilişkili pnömoniden (VAP) kaynaklanan ölüm oranının %32 ila %42.8 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (Micek, 2015). Çok merkezli gözlemsel bir çalışmada, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ventilatörle ilişkili pnömoninin (VAP) küresel prevalansının %4.1 olduğu tahmin edilmektedir. *P. aeruginosa* dünya genelinde VAP'ın en sık nedeni olup vakaların %26'sını oluşturmaktadır. *P. aeruginosa* VAP için ana risk faktörleri, bakteriyel önceden kolonizasyon ve uzun hastane yatışlarıdır (Kollef, 2014).

ABD'de 28 YBÜ'de yürütülen prospektif gözlemsel bir çalışmaya göre *P. aeruginosa*'nın sağlık hizmeti ortamında edinilmiş pnömoni riski taşıdığı düşünülen YBÜ hastaları arasında tüm hastane kaynaklı pnömoni (HAP) ve ventilatör ilişkili pnömoni (VAP) vakalarının %11'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. *P. aeruginosa*, *S. aureus*'un ardından etken patojenler açısından ikinci sırada yer almıştır (Bergin, 2020). *P. aeruginosa*, nozokomiyal idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE), yani kateterle ilişkili İYE'lerin (CAUTI) yaygın bir etiyolojik ajanıdır. *P. aeruginosa*, tüm kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının (CAUTI) %10'undan fazlasından ve yoğun bakım ünitesindeki (YBÜ) hastalarda idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) %16'sına kadarından sorumludur (Rosenthal ve ark., 2016). Hastane ortamında *P. aeruginosa*'nın neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının ortaya çıkması önemli hastalık ve ölümlerle bağlantılı olup bakterinin kan dolaşımında bulunması da olası bir komplikasyondur (Kitagawa, 2019).

Ayrıca, *P. aeruginosa* CAUTI, yerel bölgedeki spesifik antimikrobiyal direnç modellerine göre değişen yüksek antimikrobiyal direnç seviyeleriyle bağlantılıdır. Uluslararası Hastane Enfeksiyonu Kontrol Konsorsiyumu analizi, YBÜ hastalarının florokinolonlar, piperasilin-tazobaktam ve meropenem gibi antibiyotikler için %40'ın üzerinde direnç oranlarına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, bu direnç oranlarının diğer yerlerde gözlemlenenlerden daha yüksek olduğunu vurgulamak önemlidir (Rosenthal ve ark., 2016).

#### 2.6.2.2. Patojenitesi

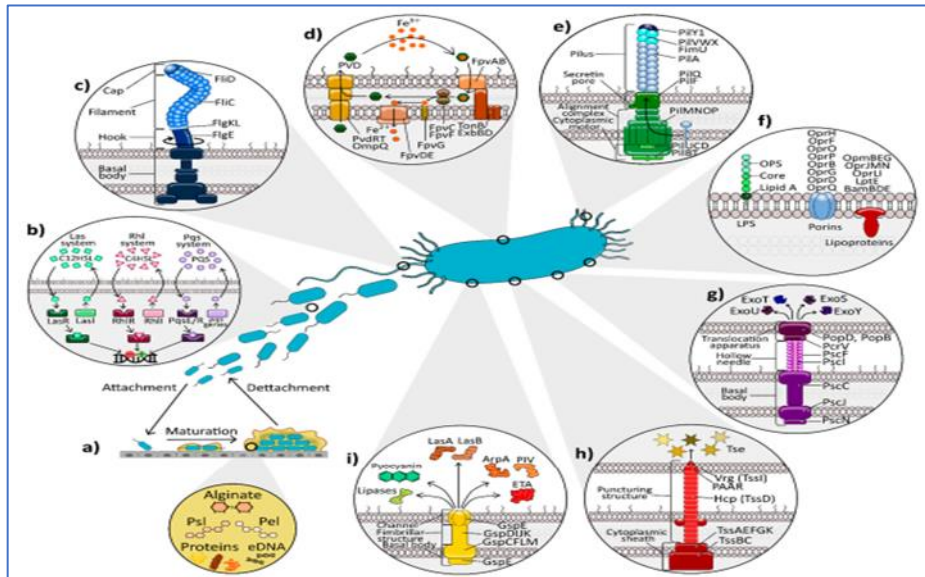
Alkali proteaz, elastaz, piyoverdin, piyosiyenin, ekzotoksinler ve sitotoksinler *P. aeruginosa*'yı potansiyel olarak zararlı kılan parçalardan bazılarıdır. Bu virülans faktörleri tipik olarak bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerle sınırlıdır. Patovarlar ayrıca kronik solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda aljinat adı verilen bir ekzopolisakkarit salgılar. Aljinat katı yüzeylerde yapışkan olarak işlev görür ve bakteriler için olumsuz çevresel koşullara karşı koruma sağlar (Streeter ve Katouli, 2016). Bakteriler ayrıca

polisakkariti daha küçük oligosakkarit birimlerine parçalayabilen aljinat liyaz enzimi salgılar. Aljinatın hem üretiminin hem de parçalanmasının enfeksiyon sürecinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Alhazmi, 2015). Organizmanın patojenitesi, hücre dışı virülans faktörlerinin ve hücre yüzeyiyle ilişkili yapıların varlığıyla artar (De Bentzmann ve Plésiat, 2011).

*P. aeruginosa*, lipopolisakkarit ve bakteriyel adezinler, özellikle de tip IV pili ve flagella kullanarak konak epitel yüzeyinde bulunan ganglioside bağlanır. Tip-IV sistemi ayrıca bakterilerin konak hücrenin yüzeyi boyunca hareket etmesini sağlar; bu süreç biyofilm oluşumunu destekleyen "seğirme hareketliliği" olarak adlandırılır (Sousa ve Pereira, 2014).

### 2.6.2.3. Virülans faktörleri

Çok sayıda silahlı *P. aeruginosa* hem hücrelerinin yüzeyinde hem de dışında, hastalığa neden olma kabiliyetine bağlı olarak çok çeşitli virülans faktörleri sergilemektedir. Bu patojen, bu faktörleri kontrol eden oldukça karmaşık ve birbirine bağlı devreler ve sinyal sistemleri sayesinde başarılı bir şekilde adapte olabilmekte ve değişebilmektedir. Bu incelemede, solunum yolu hastalıklarındaki en önemli virülans faktörlerinin organizasyonunu ve rolünü inceledik (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Solunum yolu enfeksiyonları sırasında *P. aeruginosa* tarafından kullanılan ana virülans faktörlerinin şematik sunumu.

### 2.6.2.4. Dış Membran

*P. aeruginosa*'nın dış membranı (OM), zararlı maddelere karşı bir bariyer görevi gören asimetric bir çift tabakadan oluşmaktadır. Bir fosfolipid iç yüzü ve bir

lipopolisakkarit (LPS) dış yüzü vardır. LPS dış yüzünde, birçoğu hala tam olarak anlaşılammış çeşitli işlevlere sahip yaklaşık 300 protein (OMP) bulunur (Remans ve ark., 2010; Bianconi ve ark., 2018).

#### 2.6.2.5. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkarit, lipid A, çekirdek alan ve O-antijen veya O-polisakkarit (OPS) olmak üzere üç alandan oluşur. Patojenitesine toplu olarak katkıda bulunan çok sayıda glikoform üretir. Bu madde fiziksel bir engel oluşturur, konak reseptörleri ile iletişimi kolaylaştırır ve endotoksik özellikleri aracılığıyla dokulara zarar verir (Huszczynski ve ark., 2019). LPS, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve hava yollarını kaplayan hücrelerde jel oluşturan müsin üretimine neden olur. Sonuç olarak astım, KOAH ve KF'li kişilerin hastalanma ve ölme olasılığı artar. Hava yolu epitel hücrelerinin geçirgenliğini artırır ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa), interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve interferon-gamma (IFN-gama) aktive ederek akciğerlerde iltihaplanmayı tetikler. Lipopolisakkarit (LPS) de antibiyotik direncinin gelişiminde rol oynar ve dış membran veziküllerinin (OMV'ler) ve biyofilmlerin oluşumu üzerinde etkisi vardır (Huszczynski ve ark. 2019).

#### 2.6.2.6. Flagellum

*Pseudomonas aeruginosa*'nın bir ucunda, polimerize flagellinden (FliC) yapılmış sarmal olarak düzenlenmiş bir filamentten oluşan tek bir flagellum bulunur. Ayrıca FliD adı verilen bir başlık proteini, filamentin tabanında FlgE adı verilen bir kanca, filamenti kancaya bağlayan FlgKL adı verilen iki protein ve dış ve iç membranları kapsayan bazal gövdeyi oluşturan diğer parçalar da vardır (Haiko ve ark., 2013). FliC proteini, D0, D1 (hem korunmuş hem de immünojenik olan) ve D2 (değişken olan) olmak üç farklı alandan oluşur (Song ve ark., 2014). Ayrıca, FliC proteini, Heterojen olan Fli-a ve serolojik olarak tek tip olan Fli-b olmak üzere iki serotip olarak sınıflandırılmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa* katı yüzeylerde sürü davranışı sergiler, ancak kamçısı esas olarak sıvı veya düşük viskoziteli koşullarda yüzme yeteneğinden sorumludur. Flagellum tirbuşon tarzında dönerek bakteriyi ileriye doğru iten bir itici güç sağlar (Sampedro ve ark., 2015).

### 2.6.3. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus*, farenks, gastrointestinal sistemler, genitoüriner sistemler ve ön yarıklar gibi birçok vücut bölgesinin deri ve mukoza zarlarında yaşayan çok yaygın, uyarlanabilir ve esnek bir patojendir (den Heijer ve ark. 2013). *S. aureus* hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan ve genel sağlık üzerinde önemli bir

etkiye yol açan patojenik bir mikroorganizmadır (Luzzago ve ark. 2014). Konakçı özelliği, kayıp direnci ve virülans genlerinin varlığı halk sağlığı açısından önemli sonuçlar doğurmaktadır (Saleha ve Zunita, 2010; Luzzago ve ark., 2014). *S. aureus*, *Staphylococci* cinsinin en zararlı üyesidir ve cilt apseleri, gıda zehirlenmesi ve çocuklarda bakteriyemi ve nekrotik pnömoni gibi ciddi durumlar dâhil olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olur. Ayrıca akut solunum yolu enfeksiyonlarına ve endokardite de yol açabilir (Shaw ve ark., 2004). Hastalığın ciddiyeti, çok sayıda potansiyel virülans faktörünün üretilmesine ve mecA, VanA, staphylococcal ekzotoksinler ve hastalığın başlamasına, bağışıklık sisteminden kaçışa ve konakçı dokularında antibiyotik direncinin gelişmesine yardımcı olan diğer faktörler dâhil olmak üzere antibiyotik direnç genlerinin varlığına bağlanmaktadır. *S. aureus*'un keşfi 1940'lı yılların ortalarında gerçekleşmiştir. *S. aureus*, penisilnaz olarak bilinen hidrolize edici bir enzim üreterek penisiline direnç göstermektedir (Basset ve ark., 2011). Daha sonra hem Birleşik Krallık'ta hem de Amerika Birleşik Devletleri'nde bakteriyemi vakalarında penisiline dirençli *S. aureus* suşları yaygın olarak görülmeye başlanmıştır. Hastaneyle ilişkili penisiline dirençli *S. aureus* suşları başlangıçta yalnızca hastalar ve sağlık personeli tarafından tespit edildiğinden bu adı almıştır. Bununla birlikte, daha sonra toplumdaki insanların, genellikle hastane enfeksiyonlarıyla bağlantılı herhangi bir risk özelliği göstermeyen dirençli suşlarla enfekte olduğu gösterilmiştir (Chuang ve Huang, 2013).

#### 2.6.3.1. MRSA'nın epidemiyolojisi

Başlangıçta, MRSA öncelikle hastanelerde bulunan bir patojen olarak tanımlanmış ve öncelikle sağlık tesislerine maruz kalan veya madde bağımlılığı gibi ek risk faktörlerine sahip olanları etkilemiştir (David ve Ark, 2010). Daha sonra, MRSA'nın bu varyantı sağlık hizmeti ile ilişkili MRSA veya sağlık hizmeti kaynaklı MRSA (HA-MRSA) olarak adlandırılmıştır. Çok sayıda HAMRSA suşu küresel olarak yayılmış ve Kuzey Amerika, Güney Amerika, Avrupa ve Asya'da önemli bir baskınlık göstermiştir (Stefani ve ark., 2012).

HA-MRSA'nın ortaya çıkışının coğrafi bölgelere göre önemli ölçüde farklılık gösterdiğini gözlemek önemlidir; bu durum araştırmacılar tarafından eradikasyon programlarının ve önlemlerinin etkinliğine bağlanmaktadır (Stefani ve ark., 2012). MRSA'nın sağlık kurumlarındaki izolasyonu, enfeksiyonun başlangıçta sağlık tesisleri veya diğer risk faktörleriyle herhangi bir ilişkisi olmayan sağlıklı bireylerde tespit edildiği 1990'larda bir dönüşüm geçirmiştir (David ve Ark, 2010). Daha kapsamlı bir incelemenin

ardından, yeni MRSA varyantlarının tanımlandığı tespit edilmiştir. Daha sonra, bu suşlar sağlıklı topluluklarda buldukları için toplumla ilişkili veya toplumdan edinilmiş MRSA (CA-MRSA) olarak adlandırılmıştır (David ve Ark, 2010; Hussein ve ark., 2017). CA-MRSA ve HAMRSA suşları, genetik yapıları, enfeksiyon riskini artıran ilgili faktörler ve ne kadar yaygın oldukları açısından önemli ölçüde farklılık göstermektedir. HA-MRSA ve CA-MRSA arasındaki genetik farklılıkların çoğu, DNA'da bulunan staphylococcal kromozomal kaset mec (SCCmec) tipi ile ilgilidir. HA-MRSA suşları daha büyük SCCmec tip I, II veya III üzerinde mecA genine sahiptir (David ve Ark, 2010). HA-MRSA veya CAMRSA ile kolonizasyon veya enfeksiyonla bağlantılı risk faktörleri tamamen farklıdır. Sağlık tesislerine maruz kalmak ve birçok sağlık sorununa sahip olmak HA-MRSA enfeksiyonu için birincil risk faktörleridir (David ve Ark, 2010). Buna ek olarak, (Klein ve ark. 2013) raporuna göre, yaşlı insanların HA-MRSA fenotipleri nedeniyle hastaneye yatma olasılığı daha yüksektir. Pnömoni, bakteriyemi ve invazif enfeksiyon HA-MRSA enfeksiyonunun baskın formlarıdır (Nimmo ve ark., 2003). Buna karşılık, CA-MRSA enfeksiyonu tipik olarak sağlık durumu iyi olan ve yakın zamanda sağlık tesisleriyle teması olmayan bireylerde ortaya çıkmaktadır (Herold ve ark., 1998).

#### 2.6.3.2. Bulaşma ve virülans faktörleri

*S. aureus* bakterisi, sıçanlar ve lagomorflar da dâhil olmak üzere tüm memeliler de dâhil olmak üzere çok çeşitli hayvanları kolonize etme kapasitesi nedeniyle bir türden diğerine kolayca bulaşır. İnsanlar ve hayvanlar arasında geçiş. *Staphylococcus* enfeksiyonları hayvanlar ve insanlar arasında bulaşabilme özelliğine sahiptir. Hastalığın bulaşması, insanlar ve hasta hayvanlar arasında, deri lezyonlarıyla doğrudan temas, enfekte hayvanlardan alınan doku veya kemiklerin ellenmesi ya da ısırık ve sıyrıklar yoluyla temas olduğunda gerçekleşir (Gulzar ve Zehra 2018). Hyluronidaz, proteazlar, lipazlar ve nükleazlar dahil olmak üzere virülans faktörlerinin varlığı, bakterilerin penetrasyonuna yardımcı olur.

Ayrıca, fibrinojeni fibrinojene dönüştüren bir kan pıhtısı, aglomerasyon ajanları (Clf A), fibrinojen bağlayıcı proteinler (Fnbp A) ve koyulaşmayı ve fagositozu önleyen protein A bulunmaktadır. Panton-Valentine leucocidin (PVL) doku nekrozundan sorumludur. Bakteriler, penetrasyonlarına yardımcı olan hyluronidase, proteaz, lipaz ve nükleaz dâhil olmak üzere çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. Ayrıca fibrinojeni fibrine dönüştüren koagülaz enziminin yanı sıra fibrinojene yapışmalarına yardımcı olan kümelenme faktörleri (Clf A) ve fibrinojen bağlayıcı proteinler (Fnbp A) üretirler.

Bakteriler ayrıca opsonizasyondan kaçmalarına yardımcı olan protein A ve doku nekrozundan sorumlu panton-valentin lökositidin (PVL) içerir. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcal Enterotoxin*, *Exfoliative Toxins* (A, B), Toksik Şok Sendromu Toksin-1 (TSST-1) ve hem alfa hem de beta hemolizinerler üretir. Bu toksinler, *S. aureus*'un neden olduğu çeşitli hastalıkların gelişimine önemli ölçüde etki etmektedir (Higgins ve ark., 2006; Raygada ve Levine, 2009; Nasution ve ark., 2018).

*S. aureus*, lökositlerin yutulmasını engelleyen kalın bir polisakkarit tabakası olan bir kapsüle sahiptir. *S. aureus* izolatlarının yaklaşık %90'ı bu kapsüle sahiptir. Gram-pozitif bakterilerin duvarı, hücrelerin yapışma mekanizmasında rol oynayan peptidoglikan ve lipoteikoik asitten oluşur. Bu bileşenler, *S. aureus*'ta enfeksiyonu indüklemek için özelleşmiş proteinlerle kovalent olarak birleşir (Reddy ve ark., 2017). Ayrıca, bazı *S. aureus* suşları toksik şok sendromu toksini (TSST) olarak bilinen kromozomal olarak kodlanmış protein molekülünü üretir. Bu toksin, toksik şok sendromu ile ilişkili klinik semptomların gelişmesinden sorumludur (Reddy ve ark. 2017).

#### **2.6.4. *Entamoeba histolytica***

*Entamoeba histolytica*, insan vücudunu istila eden tek hücreli bir protozoan parazittir. Amipler, sitoplazmalarının dil benzeri ve jöle benzeri bir uzantısı olan bir psödopodyum aracılığıyla kendilerini ilerletirler. *E. histolytica* ile enfeksiyon, asemptomatikten şiddetli bağırsak hastalığına ve potansiyel olarak ölümcül ekstraintestinal hastalığa kadar değişen bir dizi semptomla sonuçlanabilir. *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. hartmanii*, *E. polecki* ve *E. coli*, *Entamoeba* cinsinin insanları enfekte edebilen altı farklı türüdür. *E. histolytica* hastalıkla bağlantılı tek türdür (Fotedar ve ark., 2007; Romano ve ark., 2010; El-Dib, 2017).

Enfeksiyonların çoğunda herhangi bir belirti görülmez, ancak bağırsaklarda bir enfeksiyon varsa, haftalar boyunca kramp, mide ağrısı, sulu veya kanlı ishal ve kilo kaybına neden olabilir (Kantor ve ark., 2018). Tengku ve ark (2011) göre, morfolojik olarak ayırt edilemedikleri için mikroskopik incelemede *E. histolytica*, *E. dispar* ve *E. moshkovskii* arasında ayırım yapılamamaktadır. Mikroorganizmaların DNA analizi yapılabildiğinden beri, patojenik amip türleri artık patolojik örneklerde doğru bir şekilde tanımlanabilmektedir. Bu durum, *E. histolytica*'nın daha az yaygın hale geleceği anlamına gelmektedir. Hem *E. dispar* hem de *E. moshkovskii* asemptomatik taşıyıcıların kaynağı olarak kabul edilmektedir (Slack ve ark., 2012). *E. histolytica* geleneksel olarak gezgin ishalinin ortaya çıkmasında önemli bir faktör olmuştur. Enfeksiyonların çoğu orta Güney

Amerika, Afrika ve Hindistan alt kıtasında yoğunlaşmıştır. Seyahat edenler için risk, organizmanın yerel varlığıyla bağlantılıdır (Lo ve ark., 2014).

#### 2.6.4.1. Küresel dağılım

Paraziter hastalıklar, genel hastalık yükü üzerinde önemli bir etkiye sahip olmakla birlikte, genellikle ölümlerle sonuçlanmaktadır. Gelişmiş dünyanın yüksek gelirli bölgelerinin yanı sıra gelişmekte olan ülkelerdeki insanları da etkilemektedirler (WHO, 2008; Ben Ayed ve ark., 2017). Amebiyaz, özellikle sağlık hizmetleri, sanitasyon ve altyapının yetersiz olduğu tropikal ve subtropikal bölgelerde, küresel ölçekte hastalık ve ölüme önemli ölçüde yol açmaktadır. Ölümlerin çoğu, bağırsak veya invaziv bağırsak dışı hastalıklara bağlı ciddi komplikasyonlardan kaynaklanmaktadır (Fotedar ve ark., 2012). Amip parazitini taşıyan bireylerin %4 ila 10'unda bir yıl içinde hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır. Amipli dizanteri, sıtma ve şistozomiyazdan sonra küresel olarak paraziter hastalıklardan kaynaklanan ölümlerin en yaygın üçüncü nedenidir (Ghasemi ve ark., 2015).

Ali ve ark. (2003) Bangladeş'te *E. moshkovskii* enfeksiyonunun önemli ölçüde görüldüğünü ortaya koymuştur. *E. moshkovski*'nin 2 ila 5 yaş arası çocuklarda görülme sıklığı %21.1 olarak bulunurken, çocukların %15.6'sı *E. histolytica* paraziti ile enfekte olmuştur. Hindistan'da *E. moshkovski* ile enfeksiyonun *E. histolytica* ile enfeksiyondan daha nadir fakat daha yaygın olduğu bir gerçektir (Parija ve Khairnar, 2005). Vietnam'da amipli karaciğer apsesi prevalansı davranışsal faktörlere bağlı olarak yüksektir ve 100.000 kişide yaklaşık 21 vakaya rastlanmıştır. *E. histolytica* enfeksiyonu bu vakaların %11'inin temel nedenidir (Blessmann ve ark., 2002).

Amebiyaz Suudi Arabistan'daki gençler arasında yaygın bir sağlık sorunudur. Aralık 1995 ve Ekim 1996 arasında, akut ishal yaşayan 0-5 yaş arası 576 çocuktan oluşan bir örnekleme *E. histolytica* görülme sıklığının %2.2 olduğu tespit edilmiştir (El Sheikh ve El Assouli, 2001).

#### 2.6.4.2. Patojenitesi

*E. histolytica*'nın patogenezi karmaşık olup hem parazit tarafından üretilen virülen kimyasalları hem de konağın immünolojik tepkisini içermektedir. Bu faktörler, parazitin sistemik alanlara girmesine izin veren doku hasarı oluşturarak hastalığın gelişimine katkıda bulunur (Souza Passos ve ark., 2021). *E. histolytica*, hedef hücrelerle doğrudan etkileşim, hücre parçalanması, hücrelerin yutulması ve yutulan hücrelerin parçalanması

gibi çeşitli yıkıcı süreçler kullanır. Hücreler epitelyumdaki trofozoitlere dokunduğunda paraselüler geçirgenlik artar. Bunun nedeni TJ bağlantılarının açılması ve mikrovillusların deforme olmasıdır (Shahi ve ark., 2019). Konak plazma zarının yüzeyinde, hücreleri yan yana hareket ettiren ve ayıran ve zarın bütünlüğünü etkileyen küçük yumrular ve kabarcıklar vardır (Betanzos ve ark., 2019).

*E. histolytica* tipik olarak kolonda bulunur ve hastaların yaklaşık yüzde 90'ında asemptomatik bir enfeksiyona neden olur. Bununla birlikte, *E. histolytica* ile enfekte olan kişilerin küçük bir yüzdesinin neden patojenik bir fenotip geliştirdiği belirsizliğini korumaktadır (Begum ve ark., 2020). Kapsamlı araştırmalar boyunca, patojenik moleküllerin *E. histolytica* enfeksiyonu ile ilişkili çeşitli olaylara neden olmada bir rolü olduğu kanıtlanmıştır. Aşağıdaki fizyolojik olaylar üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır: (1) parazitin bağırsakların mukus tabakasına yerleşmesi; (2) trofozoitlerin konağın bağırsak epiteline bağlanması; (3) epitelin hücresel bağlantılarıyla etkileşim; (4) konak hücrelerinin tahrip edilmesi; (5) parazitin parçacıkları yutması ve yemesi; (6) konağın bağışıklık tepkisinin aktivasyonu ve (7) konağın bağırsak mikrobiyotasının etkisi (Begum ve ark., 2020; Rawat ve ark., 2021).

#### 2.6.4.3. Klinik özellikleri

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1997 yılında yayınlanan belgelere göre amipiyaz, protozoan parazit *E. histolytica* ile fark edilebilir semptomlar olsun ya da olmasın enfekte olma durumudur (WHO, 1997). Hastalığın, hiçbir belirti göstermemesinden amipli kolit ve/veya amipli karaciğer apsesi ile seyreden ciddi bir enfeksiyona kadar farklı şekillerde ortaya çıkma olasılığı bulunmaktadır (Castellanos-Castro ve ark., 2020). Kronik non-disenterik kolit, tüm yaş gruplarından bireyleri etkileyen en yaygın amipiyaz türüdür.

Spesifik olmayan semptomlarla karakterizedir (Ximénez ve ark., 2009). Parazite maruz kalmayı takiben, hastaların %80'i birkaç gün ile 4-6 hafta arasında değişen bir zaman diliminde semptomlar sergiler. Maruziyetten birkaç gün veya hafta sonra ishalin başlaması, invazif intestinal amipiyaz için akut bir seyir olduğunu gösterir. Bu durumun süresi tipik olarak dört ila beş haftayı geçmez, ancak bulaşıcı bir kaynağa maruz kaldıktan yıllar sonra ortaya çıktığı belgelenmiş vakalar da vardır (Ximénez ve ark., 2021). İkinci senaryoda, neden-sonuç ilişkisini doğrulamanın son derece zor olduğu varsayılmaktadır (Shirley ve ark., 2019). Bu klinik tip, irritabl bağırsak sendromunun semptomlarını da taklit edebilir ve doğal ilerleyişine benzeyebilir. Bu durumda özellikle önemli olan semptomlar, tekrarlayan karın ağrısı (kolik) atakları ve kabızlık ile dönüşümlü olarak

kendini sınırlayan ishal ataklarıdır. Disenterik olmayan amipli kolit ve irritabl bağırsak sendromu klinik uygulamada tartışma konusudur (Ximénez ve ark., 2021). *E. histolytica* enfeksiyonu geçiren bazı kişilerde karaciğer apseleri, pürülan perikardit, akciğer apseleri, pnömoni, peritonit, cilt lezyonları ve hatta beyin apseleri gibi bağırsak dışında ek semptomlar görülebilir. Bu semptomlar, trofozoitler kan dolaşımına yayıldığında ortaya çıkar (Kantor, 2018; Victoria-Hernández, 2020). Karaciğer apsesi en yaygın klinik özelliktir ve derhal teşhis ve tedavi edilmemesi ölümlü sonuçlanabilir.

### 2.6.5. *Candida albicans*

*Candida albicans*, insanların mukozal dokularında hastalıklara neden olmak için uygun koşullardan yararlanan bir mantar patojenidir. *Candida albicans*'ın neden olduğu ölümcül enfeksiyonların insidansı, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar veya implante edilmiş tıbbi ekipmanı olan hastalar gibi bu tür enfeksiyonlara duyarlı bireylerin artan popülasyonuna paralel olarak giderek artmaktadır. Yaygın enfeksiyon, antifungal ilaçların uygulanmasıyla bile %40'ın üzerinde ölüm oranıyla önemli bir risk oluşturmaktadır (Vellanki ve ark., 2019). Mantar dimorfiktir ve insanlarla kommensal bir ilişkiye sahiptir. Ağız boşlukları, vajina ve gastrointestinal sistemdeki mukozal yüzeylerde kolonize olur ve çeşitli hastalıklara neden olma potansiyeline sahiptir (Kadhun, 2019). Hücre duvarı, sürekli bileşimsel değişikliklere uğrayan ve çoğunlukla polisakkaritler, polipeptitler ve proteinlerden oluşan değişken ve akışkan bir yapıdır (Di Cosola ve ark., 2021).

*Candida albicans*'ın SDA besiyerindeki kolonileri 25°C'de beyazdan kreme kadar değişen bir renk sergiler, pürüzsüz bir dokuya sahiptir ve buruşukluk gösterebilir. Koundal ve Cojandaraj tarafından 2020 yılında bildirildiği üzere, organizmanın büyümesi 42°C sıcaklıkta gerçekleşmektedir. Bu maya, hastane ortamlarında idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktan sorumlu yaygın, fırsatçı bir patojendir. Kronik bir idrar yolu enfeksiyonunun (İYE) oluşumunda, ilk önemli aşamalar istila ve temel yapışmayı içermektedir. *Candida albicans*, çok çeşitli cansız doku ve yüzeylere tutunma kapasitesi sergiler. Örnek olarak, mayalar ağız ve vajinayı kaplayan hücrelerin yanı sıra kateterin yüzeyine de yapışma kabiliyetine sahiptir. Ayrıca, Hosseini ve ark. (2019) tarafından yapılan araştırma, mikroorganizmaların idrar sondalarının yüzeylerine tutunmasının idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabileceğini göstermiştir.

*Candida albicans*, yapışma proteinleri, şekil değişikliği, aspartil proteinleri, fosfolipazlar ve biyofilm oluşumu gibi birçok virülans faktörü nedeniyle zararlıdır. Bu

organizma omurcuklanan maya, pseudohyphae ve filamentöz formlar olmak üzere üç farklı form sergilemektedir. *Candida albicans* hücreleri başlangıçta konakçı hücrelere tomurcuklanan maya olarak tutunur ve konakçının mukoza zarı ve deri yüzeyinde immünolojik bir reaksiyona yol açmadan düzgün bir şekilde çoğalabilir. Uygun gelişim koşulları altında maya hücreleri, dokulara sızma konusunda dikkate değer bir kapasiteye sahip olan hiflere dönüşür. İnfiltrasyon yoluyla hastalığın gelişiminde önemli bir rol üstlenirler. Hücre dışı matrisler, karmaşık yapılar olan *Candida albicans* biyofilmlerini oluşturan psödopodları, maya hücrelerini ve hifleri çevreler. Hiflerin büyümesi biyofilmlerin büyümesine yardımcı olabilir. Bu matrisler koruyucu bir bariyer görevi görerek etkili antifungal tedaviyi önler (Li ve ark., 2019).

#### 2.6.5.1. Virülans faktörleri

Bir organizmanın sergilediği patojenite düzeyi virülans olarak bilinmekte ve patojenin hastalığa neden olma yeteneğini göstermektedir (Khamees, 2012). Virülans faktörleri patojene çeşitli özellikler kazandırarak konak savunmasını etkili bir şekilde etkisiz hale getirmesine ve hastalığa neden olmasına olanak tanır. Bu faktörler bakteriyel toksinleri, enzim sentezini ve antibiyotik direncini kapsar. Tüm bu özellikler patojenin farklı habitatlara adaptasyonunu kolaylaştırır (Talan ve ark., 2008; Antao ve ark., 2009).



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

##### 3.1.1. Laboratuvar ekipmanları ve cihazları

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan laboratuvar ekipmanları.

Ekipman adı	Üretici Firma	Menşei Ülke
Buzdolabı	Beko	Türkiye
Otoklav	Triup	İtalya
Distilatör	Triup	İtalya
Santrifüj	Triup	İtalya
Dijital fotoğraf makinesi	Huawei	Japonya
İnkübatör	Elektro.mag	Türkiye
Benmari	Gallenkamp	İngiltere
Elektrikli fırın	Elektro.mag	Türkiye
Dondurucu	Beko	Türkiye
Işık mikroskobu	Boeco	Almanya
Elektronik terazi	Kern	Almanya
Vorteks	Lab.Tech	Kore
Elisa	BioTek	ABD
Sıcak plaka	Witeg	Almanya
Elektroforez	Helena	ABD
Densichack	Biomeriux	Fransa
Başlık dolabı	Memmert	Almanya
Bunsen brülörü	Locally	Irak

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları.

Cihaz Adı	Üretici Firma	Menşei Ülke
Döngü	John Bolton	İngiltere
Kademeli Silindir	Jiassco	Hindistan
Petri Kapları	Himedia	Hindistan
Test Tüpleri	Pyrex	İngiltere
Filtre kağıdı	Germier	Almanya
Millipore Filtre	Sigma	İspanya
Konik Şişe	Jiassco	Hindistan
Lamlar ve Kapak Lamları	Superstar	Hindistan
Bant	Supreme	Çin
Tahta Çubuklar	Supreme	Çin
Parafilm	Neenah, WI	ABD
Vidalı Kapaklı Şişeler	Pyrex	İngiltere
Lateks Eldivenler	Greatglove	Malezya
Pipetler	Top dragon	Avrupa
Şırınga	Sterileo	Çin
Mikrotitre plakaları	Elabscience	Hindistan
Mikropipet	Winlab	Almanya
Plastik askı	Citotest	Çin
Steril kap	Bipzek	Hollanda
Forseps	National	Japonya

### 3.1.2. Kimyasal materyaller

**Tablo 3.3.** Çalışmada kullanılan kimyasallar.

Materyal Adı	Üretici Firma	Menşei Ülke
Hidrojen Peroksit	Oxoid	İngiltere
Etanol %95	BDH	İngiltere
Glikoz	Biomark	Hindistan
Glyserol	BDH	İngiltere
Hidroklorik asit	BDH	İngiltere
Hidroksit potasyum	Merk	Almanya
Kloramfenikol	Mission	Hindistan
Macfarland Çözümü	Biomerieux	Fransa
Novobiocin Diskler	Bioanalyse	Türkiye
İzoamilalkol	BDH	İngiltere
Pepton	Difco	İngiltere
Sodyum klorür	Didactic	İspanya
Üre	Merck	Almanya
Sülfürik asit	BDH	İngiltere
Baryum klorür	BDH	İngiltere
Laktofenol pamuk mavisi	BDH	İngiltere
Agar-Agar	Fluka	Almanya
Gram boyası	BDH	İngiltere
Kristal menekşe boyası	BDH	İngiltere
Metil kırmızısı	BDH	İngiltere
a-naftol	BDH	İngiltere
Tripton	Difco	ABD
Potasyum fosfat	Fluka	Almanya
Etanol %70	BDH	İngiltere
Agaroz	BiobasicINK	Kanada
Fosfat tampon çözeltisi	Fluka	Almanya
Normal salin	BDH	İngiltere

### 3.1.3. Kültür besiyeri

**Tablo 3.4.** Çalışmada kullanılan kültür ortamı.

Materyal adı	Üretici Firma	Menşei Ülke
Krom agar <i>Candida</i>	Himedia	Hindistan
Sabouraud's Dekstroza agar	Himedia	Hindistan
Kanlı Agar	Himedia	Hindistan
MacConkey Agar	Mast Group	İngiltere
Agar-Agar	Fluka	Almanya
Üre Agar Baz	Himedia	Hindistan
Besin Agarı	Oxoid	İngiltere
Metil kırmızısı-Voges Proskauer	Himedia	Hindistan
Eozin Metilen mavisi	Oxoid	İngiltere
Simmon Sitrat Agar	Himedia	Hindistan

**Tablo 3.4.** Çalışmada kullanılan kültür ortamı (devam).

Materyal adı	Üretici Firma	Menşei Ülke
Pepton Su	Himedia	Hindistan
Beyin Kalp İnfüzyon Sıvı Besiyeri	Oxoid	İngiltere
DNase Agar	Himedia	Hindistan
Tryptone Soya Sıvı	Oxoid	İngiltere
Simmon Sitrat Agar	Himedia	Hindistan
Kligler'in Demir Agarı	Oxoid	İngiltere
Mannitol Tuz Agarı	Himedia	Hindistan
Mısır unu Agar	Himedia	Hindistan
Patates dekstroz Sıvı	Himedia	Hindistan

### 3.1.4. Primerler

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisi kullanılarak yapılan moleküler tanı *Candida* türleri tanısını doğrulamıştır. Bu yöntem ITS gen bölgesindeki genetik farklılıkları bulmaktadır. Mantar DNA'sı ekstrakte edilmiş ve ITS hedef bölgesi Tablo 3.5'te belirtildiği gibi ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır.

**Tablo 3.5.** *Candida* türleri tanısını doğrulamak için kullanılan DNA primerleri ve bunların azotlu baz dizileri.

Primer adı	DNA Dizisi (5-3)
ITS1	(5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')
ITS4	(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')

### 3.2. Sterilizasyon Yöntemleri

Kültür besiyeri ve çözeltiler Brown ve Smith'e (2017) göre aşağıdaki şekilde sterilize edilmiştir.

#### 3.2.1. Isıtma yoluyla sterilizasyon

Yüksek sıcaklıklara dayanıklı kültür besiyerleri ve çözeltilerin çoğu, 121°C sıcaklıkta çalışan ve 15 dakika süreyle inç kare başına 15 pound basınç uygulayan bir otoklav aracılığıyla sterilizasyona tabi tutulmuştur. Cam malzeme, iki saat süreyle 180°C sıcaklıkta elektrikli fırına tabi tutularak sterilize edilmiştir.

#### 3.2.2. Filtreleme yoluyla sterilizasyon

Bu yaklaşım, farklı gözenek genişliklerine (0.22 µm) sahip Millipore filtreleri kullanarak üre ve şekerler gibi ısıya duyarlı sıvıların ve malzemelerin sterilize edilmesini içermektedir.

### **3.3. Çözeltilerin Hazırlanması**

#### **3.3.1. Normal salin çözeltisi**

Bakteriyel veya fungal süspansiyon oluşturmak için kullanıma hazır tuzlu su kullanılmıştır.

#### **3.3.2. Üre çözeltisi**

Bu yöntem üreaz enziminin tanımlanması için kullanılmıştır. Bu çözeltinin hazırlanması, 20 gram ürenin 10 mililitre damıtılmış suda çözülmesini ve ardından 100 mililitre nihai hacim elde etmek için yeterli miktarda damıtılmış su eklenmesini içermektedir. Çözelti daha sonra 0,22 mikrometre gözenek boyutuna sahip Millipore filtreler kullanılarak sterilize edilmiştir (MacFaddin, 2000).

#### **3.3.3. Fosfat tampon salin (PBS)**

Bu çözeltiyi oluşturmak için, önceden hazırlanmış tek bir fosfat tamponlu salin (PBS) tableti 100 ml damıtılmış suda çözülür. Daha sonra, 0,22 mm Millipore filtreleri kullanarak çözelti sterilize edilir. Son olarak, çözelti kullanıma hazır olana kadar buzdolabında muhafaza edilir. Bu çözelti membran tespit tekniğinde yıkama aşamasında kullanılır.

#### **3.3.4. McFarland bulanıklık çözeltisi**

Çözelti aşağıdaki prosedür kullanılarak laboratuvarında hazırlanmıştır:

Çözelti A: Bu çözeltiyi hazırlamak için 1,175 gram sulu baryum klorür,  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 100 mililitre damıtılmış suda çözülür.

Çözelti B: 1 mililitre sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) ile 99 mililitre saf su karıştırılır.

Bulanıklık konsantrasyonunu  $1,5 \times 10^8$  hücre/ml elde etmek için 0,5 mililitre (A) çözeltisi ile 99,5 mililitre (B) çözeltisi birleştirilir. Elde edilen çözeltide buharlaşmayı önlemek için karanlık, sıkıca kapatılmış bir cam tüp içinde iyice karıştırılır. Çözelti, bakteri kültürünü belirlemek için kullanılmaya hazır olana kadar karanlık bir yerde saklanmalıdır (Vandepitte ve ark., 2003).

#### **3.3.5. Gram boyama çözeltisi**

Hemen kullanım için hazırlanmıştır. Gram boyama prosedürü, kristal viyole boya çözeltisi, iyot çözeltisi, saf alkol ve safranin boyası dahil olmak üzere birçok çözeltinin kullanımını içermektedir. Bu çözeltiler, bakteri ve mantar kültürlerinden elde edilen cam lamları boyamak için kullanılarak mikroskopik özelliklerinin ve niteliklerinin

gözlemlenmesine olanak sağlamıştır. Bu durum, kültürlerin spesifik boya için pozitif ya da negatif olarak sınıflandırılmasını kolaylaştırmıştır (Babapour ve ark. 2016).

### **3.3.6. Laktofenol mavi boyası**

Mayaları tanımlamak için kullanıma hazır bir boya kullanılmıştır (Ellis 1994).

### **3.3.7. Kristal menekşe çözeltisi**

Bu çözeltiyi hazırlama süreci, 0,1 g kristal menekşe tozunun 10 ml damıtılmış su ile birleştirilmesini ve ardından 0,22 gözenek genişliğine sahip Millipore filtrelerle sterilize edilmesini içermektedir. Filtreden geçirilen çözelti daha sonra gerekli olana kadar 4 santigrat derece sıcaklıkta tutulur. Bu çözelti, izolatların biyofilm geliştirme kapasitelerini değerlendirmek için kullanılır (Babapour ve ark., 2016).

## **3.4. Reaktiflerin Hazırlanması**

### **3.4.1. Oksidaz reaktifi**

Çözelti, 0.1 g parafenilendiamininin 10 ml damıtılmış suda çözülmesiyle formüle edilmiş ve daha sonra koyu renkli bir şişede saklanmıştır. Bu test, izolatların oksidaz enzimi üretme kapasitesini değerlendirmek için kullanılmıştır (Brown ve Preston, 1991).

### **3.4.2. Katalaz reaktifi**

Sağlanan reaktif, %3 hidrojen peroksit içeren hazır bir çözeltidir. Bakterilerin katalaz enzimi üretim kapasitesini belirlemek amacıyla özel olarak tasarlanmıştır (Forbes ve ark., 2007).

### **3.4.3. Metil kırmızı reaktifi**

Reaktif, 0.1 g metil kırmızısı tozunun 300 ml %95 etil alkolde çözülmesinin ardından 200 ml distile su eklenmesiyle hazırlanmıştır (Cawon ve Steel, 2004).

### **3.4.4. Kovac reaktifi**

Reaktifi hazırlamak için 5 gram para-dimetil aminobenzaldehit 75 mililitre izoamil alkol içinde çözülür. Daha sonra, reaktifin rengi soluk sarıya dönüşene kadar yavaş yavaş 25 mililitre güçlü hidroklorik asit (HCl) ilave edilir. İndol halkasının varlığını tespit etmek için çözelti şeffaf olmayan bir şişeye konur, buzdolabında saklanır ve kullanılmadan önce çalkalanır (Baron ve ark., 1999).

### **3.4.5. Voges-Proskauer reaktifi**

Çözelti, %96 etanol içinde %40 potasyum hidroksit ile %5 alfa-naftol birleştirilerek formüle edilmiştir. Bu çözelti Voges-broskauer testi için bir gösterge görevi görmektedir (Gunnemann ve ark., 2013).

## **3.5. Kültür Besiyeri**

### **3.5.1. Hazır kültür besiyerinin hazırlanması**

Kültür besiyerleri, daha sonra ele alınacak olan bazı sentetik besiyerleri hariç olmak üzere, üreticinin talimatlarına ve etiketine uygun olarak oluşturulmuştur. Sterilizasyon işlemi, 15 psi bir basıncı korurken 15 dakika süreyle 121°C sıcaklıkta bir otoklava tabi tutulmalarını kapsamaktadır. Örnekler, sterilitelerini garanti altına almak için 24 saat süreyle 37°C sıcaklıktaki inkübatöre yerleştirilmiştir. Daha sonra, kullanılabileceği kadar 4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

### **3.5.2. Sentetik kültür besiyerlerinin hazırlanması (Laboratuvarda hazırlanan besiyerleri)**

#### **3.5.2.1. Kanlı agar**

Üreticinin talimatlarını izleyerek, besiyerini oluşturmak için 40 g madde 1000 ml damıtılmış suda çözülmüştür. Daha sonra, nesne bir otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuş ve burada 15 dakika süreyle 121°C sıcaklık ve 15 psi basınca maruz bırakılmıştır. Bunu takiben, nesnenin 50°C sıcaklığa kadar soğumasına izin verilmiştir. Daha sonra nesneye %5 konsantrasyonda insan kanı eklenmiştir. Bu besiyeri, belirli büyüme ihtiyaçlarına karşı hassasiyet gösteren bakterilerin yetiştirilmesi için kullanılmaktadır (Forbes ve ark., 2007).

#### **3.5.2.2. Üre Agar besiyeri**

Besiyerinin hazırlanması, üretici tarafından sağlanan talimatlar izlenerek 24 g katı üre bazlı besiyerininin 950 ml damıtılmış suda çözülmesini kapsamıştır. Daha sonra karışım bir otoklav kullanılarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminin ardından karışım 50°C sıcaklığa ulaşana kadar soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra 50 ml %40 üre çözeltisi eklenmiştir. Bu çözelti, 40 g ürenin 100 ml damıtılmış suda çözülmesi ve 0,22 mikrometre çaplı Millipore filtreler kullanılarak sterilize edilmesiyle elde edilmiştir. Daha sonra katı üre besiyerine eklenmiş ve aseptik tüplere aktarılmıştır. Bu besiyeri, bakteri ve mayaların üre üretim kapasitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır (Tille, 2017).

### 3.5.2.3. Yağsız Süt Agar besiyeri

Besiyeri, 28 gram besin agarının 875 mililitre damıtılmış suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Karışım tamamen çözünene kadar kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve ardından 15 dakika boyunca inç kare başına 15 pound basınç ve 121 °C sıcaklıkta bir otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra 45-50 °C sıcaklık aralığına soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra, kültüre 125 ml pastörize süt eklenmiş, iyice karıştırılmış ve aseptik petri kaplarına aktarılmıştır (Collee ve ark., 1996).

### 3.5.2.4. Motilite besiyeri

Besiyeri, 1 litre distile suda 5 gram sodyum klorür, 5 gram agar-agar ve 10 gram tripton çözülerek hazırlanmıştır. pH 7.2'ye ayarlanmış ve ardından besiyeri otoklavlanmıştır. (Harley ve Prescott bu işlemi 1996) yılında tanımlamıştır. Bu besiyeri hareketi değerlendirmek için kullanılmıştır (Collee ve ark., 1996).

### 3.5.2.5. Metil kırmızı- voges proskauer

Bu besiyerinin hazırlanmasında 5'er gram glikoz, potasyum monohidrojen fosfat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ve pepton 950 mililitre damıtılmış suda çözülmüştür. Daha sonra hacim 1000 mililitreye tamamlanmadan önce pH 7.2'ye ayarlanmıştır. Besiyeri bir otoklavda sterilize edilmiş ve ardından her tüp 5 mililitre içecek şekilde tüplere eşit olarak dağıtılmıştır. Ürün 4 santigrat derece sıcaklıkta saklanmıştır (Wistreich, 1997).

### 3.5.2.6. 1'lik glikoz içeren sıvı soya besiyeri

Hazırlık, 2,5 gram sıvı soya tripton besiyerinin 90 ml damıtılmış suda çözülmesini ve ardından 121°C sıcaklıkta 15 saniye süreyle ve 15 pound basınçla otoklavlanmasını içermektedir. Bir glikoz çözeltisi oluşturmak için 1 gram glikoz 10 mililitre damıtılmış suda çözülmüş ve 0,22 mikrometre gözenek genişliğine sahip bir Millipore filtre kullanılarak sterilize edilmiştir. Daha sonra bu çözelti 40 ila 45 santigrat derece arasındaki bir sıcaklıkta sıvı soya tripton besiyerine eklenmiştir. Bu besiyeri, biyofilm üretimi sergileyen bakteri izolatlarının tanımlanması için kullanılır (Deka, 2014).

### 3.5.2.7. Beyin kalp infüzyonu gliserol sıvı besiyeri

Bu besiyerinin bileşimi kalp ve beyin dokularının infüzyonu ile birlikte %15 konsantrasyonda gliserol içermektedir. Sterilizasyonun ardından ürün 5 ml'lik porsiyonlara bölünerek steril tüplere yerleştirilmiştir. Daha sonra kullanıma hazır olana

kadar 4 °C sıcaklıkta tutulmuştur. Bakteri izolatları bu yöntem kullanılarak -20 °C sıcaklıkta uzun süre saklanabilir (Riddell ve Sanyal, 2019).

#### 3.5.2.8. Sabouraud dekstroz agar besiyeri

Mayalar bu besiyeri kullanılarak izole edilmiştir. Besiyerinin hazırlanmasında 65 gram saprodektrose agar 1000 ml distile suda çözülmüştür. Elde edilen besiyeri daha sonra bir otoklavda sterilize edilmiş ve 45°C sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Daha sonra besiyerine 250 mg bakteriyel antibiyotik kloramfenikol eklenmiş ve pH 5.6'ya ayarlanmıştır (Kwon-chung ve Bennett, 1992).

### 3.6. Çalışma Yöntemleri

#### 3.6.1. Dışkı örneklerinin toplanması

110 dışkı örneği Temmuz ve Ekim 2023 tarihleri arasında Çocuk Hastanesi'nde ishal belirtileri gösteren bebeklerden alınmıştır. Bebekler hakkında toplanan bilgiler arasında isimleri, cinsiyetleri, muayene tarihleri ve antibiyotik alıp almadıkları yer almıştır. Dışkı örnekleri, toplanmasını kolaylaştırmak için geniş ağızlı steril plastik şişeler kullanılarak alınmış ve herhangi bir kontaminasyonu önlemek için kap derhal kapatılmıştır. Daha sonra, örnekler derhal mikroskopik analize ve kültüre tabi tutulmuş ve bu işlemler örneklerin alınmasından itibaren iki saatten kısa bir süre içinde gerçekleştirilmiştir.

#### 3.6.2. Dışkının mikroskopik incelenmesi

Dışkı örneklerinden 5-10 ml'lik bir hacim alınmış ve normal salin damlacıklarıyla birlikte bozulmamış bir cam lamel üzerine bırakılmıştır. Daha sonra, lamel kapağı örneğin üzerine yerleştirilmiş ve irin hücreleri, epitel hücreleri, bakteriler ve parazitlerin varlığını tespit etmek için mikroskopik incelemeye tabi tutulmuştur. *Candida* mikroskop altında küçücük ve elips şeklinde görülmektedir.

#### 3.6.3. Bakteriyel tanı testleri

##### 3.6.3.1. Morfolojik ve mikroskopik tanı

Bakteri izolatları ilk olarak kanlı agar ve MacConkey agar besiyerlerindeki şekillerine ve kültürlerine bakılarak adlandırılmıştır. Bu kapsamda kolonilerin rengi, boyutu, dokusu, yüksekliği ve şeklinin yanı sıra MacConkey agar besiyerinde kanı metabolize etme ve laktozu fermente etme kabiliyetleri analiz edilmiştir. İzolatların mukus üretimi ve diğer özelliklerinin değerlendirilmesi, yağlı mercek mikroskopik

incelemesinin sonrasında gelmektedir. İzolatlar bir cam lam üzerinde ısı ile sabitlenir ve bakterinin şeklini, düzenini ve boyama yeteneğini ayırt etmek için gram boyası ile boyanır (Benson., 1967; Prescott ve ark., 2005).

### **3.7. Biyokimyasal Testler**

#### **3.7.1. Oksidaz testi**

Çoğalan koloniler aseptik tahta çubuklar kullanılarak filtre kağıdına aktarılmış, ardından oksidaz reaktifinden bir damlacık eklenmiştir. Renk tonu 20-30 saniyelik bir zaman dilimi içinde mor bir tona dönüşmüş, bu durum oksidaz enziminin üretildiğini gösteren olumlu bir yanıtla sonuçlanmıştır (Biswas ve Rather, 2019).

#### **3.7.2. Katalaz testi**

Bu test, katalaz enzimi üretme yeteneğine sahip mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılmaktadır. Deney, steril tahta çubuklar kullanılarak bir bakteri kolonisinin temiz, kuru ve steril bir cam lam üzerine aktarılmasını içermiştir. Daha sonra, bakteri kolonisine bir damla %3 hidrojen peroksit çözeltisi uygulamak için bir Pasteur pipeti kullanılmıştır. Yüzeyde hava kabarcıklarının ortaya çıkması olumlu bir test sonucunu sağlamaktadır (Tille, 2015).

#### **3.7.3. İndol testi**

İzole edilen bakterilerin bir kısmı indol besiyeri içeren test tüplerine ekilmiş ve ardından 24 saat süreyle 37°C sıcaklıkta kültüre edilmiştir. Daha sonra tüpe 5 ml Covax reaktifi eklenmiştir. Besiyerinin yüzeyinde kırmızı bir halkanın belirmesi başarılı bir sonuca işaret etmektedir (triptofanın indole hidrolizi) (Collee ve ark., 1996).

#### **3.7.4. Voges-Proskauers testi**

Bakteri kolonileri Metil Kırmızısı-Voges Proskauer besiyeri içeren tüplere konulmuş ve ardından 24 saat süreyle 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Bir sonraki adım 10 damla VP1 (alfa-naftol) ve ardından 5 damla VP2 (KOH) eklemek olmuştur. Renkteki değişiklik 30 dakikalık bir zaman dilimi içinde görülmüştür. Besiyerinin rengi sarıdan kırmızıya geçerek olumlu bir sonuca işaret etmiştir. Bu test, bakterinin şeker fermantasyonu süreci yoluyla asetoin üretme kapasitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır (Brown ve Smith, 2017).

### **3.7.5. Metil kırmızı testi**

Saf bakteri kolonileri Metil kırmızısı-Voges-Proskauer besiyeri içeren tüplere aşılanmış ve 37°C sıcaklıkta 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra, 5 damla metil kırmızısı reaktifi eklenmiştir. Besiyerinin koyu kırmızı renge dönüşmesi, olumlu bir sonucu ve glikozun hidroliz yoluyla tamamen parçalandığını göstermektedir (McFaddin, 2000).

### **3.7.6. Sitrat kullanım testi**

Simmon'un sitrat besiyerini içeren tüpler, bıçaklama ve streçleme yöntemi kullanılarak saf bakteri kolonileriyle aşılanmıştır. Daha sonra tüpler 37° sıcaklıkta 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Besiyerinin renk tonunun yeşilden maviye dönüşmesi olumlu bir sonucun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu deney, bakterilerin özel karbon kaynağı olarak sitrat ve azot kaynağı olarak amonyum tuzlarını kullanma kapasitesini değerlendirmek için yapılmıştır (Brown and Smith, 2017).

### **3.7.7. Üreaz testi**

Bakteriler üre agar besiyerine saplama tekniği kullanılarak ekilmiş ve tüpler 24 saat süreyle 37°C sıcaklıktaki bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Besiyerinin renginin sarıdan pembeye dönmesi olumlu bir sonuç anlamına gelmekte ve bakterinin üreaz enzimi üretme kapasitesini göstermektedir (Tille, 2017).

### **3.7.8. Kligler demir agar testi**

Deney, MacConkey besiyerindeki bakterilerin bıçak ve plan tekniği kullanılarak katı demir disakkarit besiyerine eklenmesini içermiştir. Karışım daha sonra 37°C sıcaklıkta 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Sonuç, besiyerinin alt ve eğimli yüzeylerindeki asidik pH düzeylerindeki değişikliklerle belirlenmiştir. Sonuç, fermentasyon türünün gözlemlenmesi ve ardından reaktifin renginde meydana gelen değişikliklerle belirlenmiştir. Fenol kırmızısı sarıya doğru bir renk değişimine uğrar ve gaz üretebilir ya da üretmeyebilir (Forbes ve ark., 2007).

### **3.7.9. Motilite testi**

İncelenecek bakteriler, yarı katı bir hareketlilik besiyeri içeren tüplere delinerek yerleştirildikten sonra 37°c sıcaklıkta 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Üremenin delme bölgesinin ötesine yayılması olumlu bir sonuç anlamına gelmektedir (McFaddin, 2000).

### **3.8. Parazit Enfeksiyonu Tanısı**

Örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz derhal analiz edilmiş ve trofozoit fazını tanımlamak için kan veya mukus içeren bölgelerden alındıklarından emin olunmuştur. Bu faz genellikle sıvı örneklerde bulunmakta ve tipik olarak kist fazı içeren katı veya yarı katı dışkıda nadiren gözlenmektedir. Amip *histolytica* parazitinin varlığını tespit etmeye yönelik inceleme, örnekte kan veya mukus bulunması ile gösterilebilir (Clark ve Diamond, 2002). Dışkı örnekleri, aşağıdaki tanı prosedürleri kullanılarak enfeksiyonu teşhis etmek amacıyla işleme tabi tutulmuştur.

#### **3.8.1. Fizyolojik tuzlu su çözeltisi ile hazırlanmış sürüntü**

Cam lamın temiz olduğundan emin olduktan sonra üzerine önceden hazırlanmış fizyolojik tuzlu su çözeltisinden bir damla damlatarak sürüntü çubuğunu hazırladım. Tahta bir çubukla küçük bir miktar dışkı aldım ve homojen bir kıvama gelene kadar fizyolojik çözeltiyle iyice karıştırdım. Daha sonra, kapak lamını örneğin üzerine yerleştirdim ve 10x büyütme kullanarak analiz etmeye devam ettim. Önemli bir büyüklüğü x40 olan (Baron ve ark., 1994) bu teknik, trofozoiti teşhis etmek ve tutarlı tek yönlü hareketiyle diğer amiplerden ayırt edilebilen amipli dizanteri parazitinin hareketini incelemek için kullanılmıştır.

### **3.9. Maya Tanı Testleri**

#### **3.9.1. Morfolojik ve mikroskopik tanı**

SDA besiyerine ekilen kolonilerin fenotipik özellikleri, koloni rengi, şekli, dokusu, kokusu ve yüksekliği incelenerek tespit edilmektedir. Daha sonra, SDA besiyerinde gelişen kolonilerin mikroskopik bir analiz yapılır. Koloninin bir kısmı bir vektör kullanılarak çıkarılır ve lam üzerine bırakılır. Sonrasında, bir damla normal salin eklenir ve laktofenol mavisi boya ile boyanır. Lam daha sonra kapatılır ve yüksek güçlü bir ışık mikroskobu altında incelenir. Psödohifler ve büyük sporlar 40X büyütme ile gözlemlenmiştir. Daha sonra steril bir cam lam toplanmış ve Gram boyası ile boyanmıştır. Lam daha sonra alev üzerinde sabitlenmiş ve filizleri gözlemlmek için mikroskop altında incelenmiştir (Ellis ve ark., 2007).

#### **3.9.2. Krom agarda büyüme testi**

Farklı *Candida* türleri agar kromojenik besiyeri kullanılarak ayrılmıştır. Bu tür besiyerleri, izolatlar kendisiyle etkileşime girdiğinde renk oluşturur (Musa ve ark., 2020). *Candida* kolonisinin bir örneği, 24 saatlikken steril bir döngü taşıyıcı kullanılarak elde

edilmiştir. Koloni SDA besiyerine ekilmiş ve ardından Chromium Agar besiyerine ekilmiştir. Plakalar 24-48 saat boyunca 37°C sıcaklıkta tutularak farklı renklerde kolonilerin oluşması sağlanmıştır (Ibrahim ve Yehia, 2017).

### 3.10. Mayaların Moleküler Tanısı

Dhi qar şehrindeki Golden Steps laboratuvarı *Candida* türleri tanımlamak için bir polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirmiştir. Mantardan DNA izole edilmiş ve ITS hedef bölgesi Çizelge 3.6'da listelenen primerler kullanılarak çoğaltılmıştır. Prosedür, White (1990) tarafından sağlanan yönergelerle uygun olarak, aşağıdaki adımlar izlenerek gerçekleştirilmiştir:

### 3.11. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu işlemi, Kit 100® Chelex kullanılarak tek başına, kontamine olmamış ve metabolik olarak aktif bir *Candida* mayası kolonisinden gerçekleştirilmiştir. Chelex 100® çözeltisi Amerika Birleşik Devletleri'nde BioRad tarafından üretilmiş ve ekstraksiyon işlemi için aşağıdaki adımları içeren üreticinin tavsiyelerini izlemiştir:

❖ Yaklaşık 200 mg çoğalan maya kolonisi sıvı nitrojen içeren steril bir seramik kaba aktarılmıştır. Maya kolonileri toz haline getirilmiş ve daha sonra aseptik 1,5 ml'lik tüplere aktarılmıştır.

❖ Sonrasında, her bir örneğe 180 µl Universal Parçalama Tamponu ve 20 µl K-Proteinaz enzimi eklenmiştir. Karışım bir karıştırma cihazı kullanılarak iyice karıştırılmış ve 56°C sıcaklıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sırasında her tüp için bir benmari kullanılmıştır.

❖ 100 µl PF Evrensel Tampon Çözeltisi dağıtılmış ve bir karıştırıcı kullanılarak çalkalanmıştır. Daha sonra, tüpleri 30 dakika süreyle 20 °C sıcaklığa ayarlanmış bir inkübatöre yerleştirilmiştir.

❖ Örnekler 5 dakika süreyle dakikada 10.000 devir hızında santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra, süpernatant olarak bilinen tortunun üzerindeki sıvı kısım yeni bir 1,5 ml'lik tüpe aktarılmıştır.

❖ 100 µl Evrensel Tampon BD çözeltisi dağıtılmış ve bir karıştırıcı kullanılarak çalkalanmıştır. Numuneler, %96 saf etil alkol ilavesinden sonra bir karıştırıcı ile iyice karıştırılmıştır.

❖ Kit kullanılarak üretilen DNA'yı ekstrakte etmek için karışım bir filtre ile donatılmış özel tüplere aktarılmıştır. Tüpleri 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştikten sonra 1200 rpm hızda bir dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Daha sonra tortu atılmıştır.

❖ 500 µl Evrensel PW Çözeltisi eklendikten sonra tüpler 1200 rpm hızında santrifüj edilmiş ve ardından tortu çıkarılmıştır.

❖ 500 µl Evrensel Yıkama Çözeltisi eklendikten sonra, tortuyu ayırmak için tüpler 1200 rpm'de santrifüjlenmiştir.

❖ DNA'yı içeren EZ-10 steril 1,5 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Daha sonra bu tüpler bir santrifüje yerleştirilmiş ve 1200 devir/dakika hızda döndürülmüştür. Bu işlem alkolü uzaklaştırmayı ve EZ-10 kolon membranındaki çökeltiyi ortadan kaldırmayı amaçlamıştır.

❖ DNA'yı çözmek için EZ-10 kolon filtresine 50 µl TE tampon çözeltisi enjekte edilmiştir. Karışımın oda sıcaklığında bir dakika inkübe olmasına izin verilmiştir. Daha sonra tüpler santrifüje aktarılmış ve DNA'nın toplanması için 1200 devir/dakika hıza ayarlanmıştır.

❖ Tüm örnekler için DNA saflığının nanodrop spektrofotometre ile değerlendirilmiştir.

**PCR için reaksiyon karışımının hazırlanması:** Tablo 3.6'da gösterildiği gibi, üreticinin talimatlarına göre bir PCR reaksiyon karışımı (25 mikrolitre) hazırlanmıştır.

**Tablo 3.6.** PCR karışım bileşenleri.

PCR ana karışımı	Hacim
Ana karışım	5 µl
İleri primer	1 µl
Geri primer	1 µl
Nükleaz içermeyen su	13 µl
Genomik DNA	5 µl
Toplam	25 µl

Yukarıda belirtilen çizelgede belirtilen kombinasyon bileşenleri, kalan PCR reaksiyon bileşenleri ile birlikte 0.2 ml'lik tüplere yerleştirilmiştir. Tüpler karışımı içeren santrifüje aktarılmış ve 3000 devir/dakika hızda 3 dakika boyunca döndürülmüştür. Daha sonra, amplifikasyon sürecini başlatmak için PCR termal döngüleyicisine yerleştirilmiştir. DNA, Tablo 3.7'de belirtildiği gibi üreticinin protokolünde belirtildiği gibi tüm genler için en uygun koşullar altında ısı döngülerine tabi tutulmuştur.

**Tablo 3.7.** ITS geninin PCR aşamaları için optimum termal koşullar.

PCR Adımı	Tekrar Döngüsü	Sıcaklık	Süre
İlk denatürasyon	1	95 °C	3 dk
Denatürasyon	35	95 °C	30 sn
Tavlama	1	56 °C	1 dk
Uzatma	1	72 °C	50 sn
Son uzatma	1	72 °C	5 dk

### 3.12. PCR Veri Analizi

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürün analizi sonucu, daha önce belirtilen yöntem izlenerek %1.5 agaroz jel kullanılarak elektroforez yapılarak belirlenmiştir:

❖ Karışımı iki dakika süreyle ısıtmak için bir mikrodalga cihazı kullanılmıştır. 1.5 g agaroz jel ile 100 mililitre TBE tamponunu 1 x 1 konsantrasyonda birleştirerek bir çözelti hazırlanmıştır.

❖ Agaroz jel 50°C sıcaklığa kadar soğutulduktan sonra 3 ml radyoaktif DNA boyası Ethidium Bromide eklenmiş ve jel ile iyice birleştirilmiştir.

❖ Jel, PCR örneklerinin konumlarını tespit etmek için bir tarak içeren röle kalıbına yerleştirilmiştir. Ardından, jelin oda sıcaklığında 15 dakika süreyle katılaşmasına izin verilmiştir. Daha sonra tarak jelden çıkarılarak elektroforez havuzuna aktarılmıştır.

❖ PCR ürününü içeren örnekler jel üzerinde belirlenmiş alanlarda biriktirilmiştir.

❖ PCR sonucunu ölçmek için 100 ila 1000 baz çifti arasında değişen DNA merdiveni kullanılmış ve ilk kuyucuklara yerleştirilmiştir.

❖ Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra agaroz jeli 1X konsantrasyonunda TBE tamponuna daldırılmıştır. Transfer kapağı sabitlenmiş ve elektrikli röle cihazı 100 volt ve 80 amper akımla bir saat süreyle aktive edilmiştir.

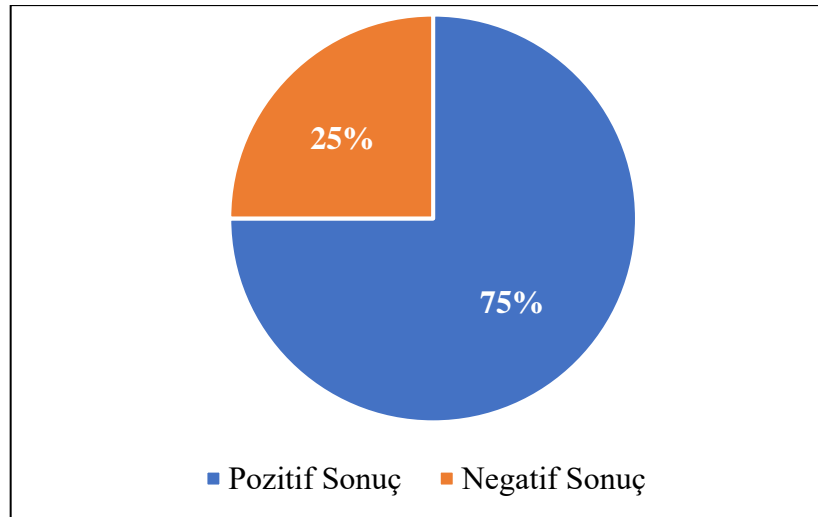
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Örneklerin Dağılımı

Mevcut araştırmada, Tablo 4.1'de gösterildiği üzere 62 (%56.4) erkek yenidoğan ve 48 (%43.6) kız bebek olmak üzere toplam 110 örnek kullanılmıştır. Çalışma, kanlı agar, mannitol agar, çikolata agar, Sabouraud dekstroz agar ve MacConkey agar gibi uygun besiyerlerinde büyütüldüğünde toplam örneklerin 83'ünün (%75.5) mikroorganizma tespiti açısından pozitif olduğunu ortaya koymuştur. Toplam örneklerin %24.5'ini oluşturan 27 örnek mikrobiyolojik tanı açısından negatif çıkmıştır.

**Tablo 4.1.** Çalışma örneklerinin bulgulara göre dağılımı.

Gruplar	Enfekte Sayısı (%)	Enfekte olmamış Sayısı (%)	Toplam Sayı (%)
	+ve kültür	-ve kültür	
Erkek	46 (55.4)	16 (59.3)	62 (56.4)
Kadın	37 (44.6)	11 (40.7)	48 (43.6)
Toplam	83 (75.5)	27 (24.5)	110 (100)



**Şekil 4.1.** İshalli hastalarda bakteriyel, fungal ve parazit yüzdesi.

Akut ishalli çocukların çoğunda patojen mikroorganizmalar için yapılan dışkı muayenesi negatif sonuç vermiştir. Bu bebeklerde ya bağırsaklar dışında herhangi bir hastalık belirtisi görülmemiş ya da alakasız nedenlere bağlı ishal görülmüştür. İshal, gıda alerjilerine veya tespit için özel kültür besiyeri gerektiren diğer mikroorganizmalara atfedilebilir. Dışkı incelemesi pozitif çıkan bebeklerin çoğunluğu tipik olarak 6 aylıktan büyük olup bulunan en yaygın mikroorganizma *E. coli*'dir. Bu durum, yaşamın ilk 6 ayında insan sütünün koruyucu özelliklerinin yanı sıra tamamlayıcı beslenmeye geçildiğinde kontamine yiyecek ve içeceklerden kaynaklanan enfeksiyon riskinin artmasına bağlanabilir. Gana ve Nijerya'da yapılan bir araştırma, anne sütü ve diğer

gıdaların bir arada verildiği 6-11 aylık çocukların ishal olma ihtimalinin, sadece anne sütüyle beslenen bebeklere kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (Newburg ve ark., 1998). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırma, emzirmenin daha düşük hastalık oranıyla bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur. Yetersiz emzirmenin çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlamadığı da gösterilmiştir (Raisler ve ark., 1999). *Entamoeba histolytica*, 6 aydan büyük bebeklerin dışkı örneklerinde, muhtemelen yiyecek ve içecek kontaminasyonunun bir sonucu olarak tespit edilmiştir. Altı aylıktan küçük bebeklerin çoğunluğu kısmi anne sütü alırken, yenidoğanların az bir kısmında sadece anne sütü ile beslenme gözlenmiştir (Wan ve ark., 1999). Cinsiyet, 6 yaşın altındaki çocuklarda ishalleri enfeksiyonların ortaya çıkmasına sebep olan bir faktör olarak görülmektedir. Tüm enfeksiyonların görülme sıklığının erkeklerde kızlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, aralarındaki fizyolojik farklılıklara atfedilebilir olmakla beraber, kesin nedeni bilinmemektedir (Chopra ve ark., 1989). Erkeklerde karışık enfeksiyonların ve spesifik bir enteropatojenin tanımlanamadığı vakaların görülme sıklığı kadınlara kıyasla daha yüksektir. İshal yapıcı *E. coli* suşları, çoğunlukla enfekte ellere, kontamine bebek mamalarına veya kontamine mamalara dokunmak suretiyle dışkıdan ağza geçiş yoluyla yayılmaktadır. İshal yapıcı *E. coli* enfeksiyonunun kaynağının semptomatik veya asemptomatik çocukların yanı sıra anneler ve yenidoğanlarla temas edenler de dahil olmak üzere asemptomatik yetişkin taşıyıcılar olduğu düşünülmektedir. Birçok ülkede yürütülen epidemiyolojik araştırmalar, asemptomatik bireylerin hastalığı taşıdığını ortaya koymuştur. Bazı araştırmalara göre, 2 yaşın altındaki sağlıklı bebeklerin %20'sinin dışkılarında EPEC serotiplerinden *E. coli* salgıladığı tespit edilmiştir (Paniaqua ve ark., 2007).

#### **4.1.1. Tanımlama**

Bakteri izolatlarının morfolojisi, çapı ve formları kanlı agar, mannitol agar, çikolata agar ve MacConkey agar üzerinde değerlendirilmiştir. Mikroskopik ve biyokimyasal incelemelerin yanı sıra her bir tür için özel testler, biyokimyasal tanımlama bulgularını doğrulamak için kullanılmıştır. Sonuçlar, bakteri izolatlarının toplam izolatların 47'sini (%56.6) oluşturduğunu, maya izolatlarının 15'ini (%18.1) temsil ettiğini ve parazit izolatlarının toplamın 21'ini (%25.3) oluşturduğunu göstermiştir.

**Tablo 4.2.** İshalli bebeklerden elde edilen mikrobiyal izolatların sayısı ve yüzdesi.

Mikrobiyal izolatlar	N	Yüzde
Bakteriyel izolat	47	<b>56.6</b>
Maya izolatları	15	<b>18.1</b>
Parazit	21	<b>25.3</b>
Toplam	83	<b>100</b>

**Tablo 4.3.** İzole edilen bakteri yüzdeleri.

Gram negatif bakteriler	N	%
<i>Escherichia coli</i>	48	84.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	5.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	10.5
Toplam	57	100

## 4.2. Bakterilerin Tanımlanması

### 4.2.1. *Escherichia coli*

*E. coli*, MacConkey agar üzerinde küçük, kuru, pembe koloniler sergilemiştir (Şekil 4.2). EMB besiyerinde büyütüldüğünde yeşil metalik bir parlaklık sergilemiştir. IMVC testi Fox Perseure ve sitrat testleri için negatif, indol ve kırmızı metil germ için pozitif sonuçlar göstermiştir. Bu bakteri şekerleri fermente ederek asit ve gaz üretmektedir. Ancak üreaz testi negatif çıkmıştır.

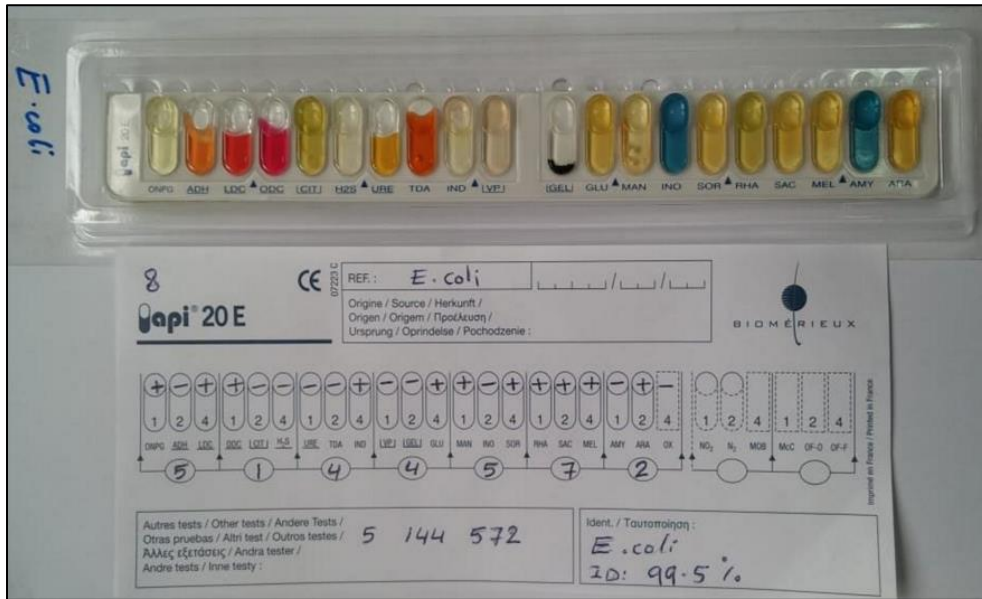


**Şekil 4.2.** MacConkey agar üzerinde *E. coli* kolonileri.

Yapılan son araştırmalar, bebek enfeksiyonlarının en yaygın nedeninin bakteriler olduğunu ortaya koymuştur. *E. coli*, çeşitli yaş gruplarındaki erkeklerde yaygın olarak solunum yolu enfeksiyonlarına (RTI) neden olan oldukça inatçı bir bakteridir (Khan ve Khan 2004). Son bulgular, *E. coli* enfeksiyonu prevalansının %84.2 olduğunu ortaya

koymuştur. İnsanlarda hemorajik kolit ve HUS gibi iki ciddi tıbbi durumun birincil nedeni olarak kabul edilen *E. coli*, önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir (2008). Mevcut çalışma, iki yaşın altındaki çocukların *E. coli*'ye bağlı kanlı ishal insidansının en düşük olduğunu, iki yaşın üzerindekiilerin ise en yüksek riske sahip olduğunu göstermiştir.

Mevcut çalışmanın bulguları, (Baqir ve arkadaşları 2008) tarafından yürütülen önceki araştırmalarla uyum gösterirken, iki yaşın altındaki küçük çocuklardan toplanan örneklerin hiçbirinde *E. coli* bulunmadığını bildiren (Trung ve arkadaşlarının 2005) bulgularıyla çelişmektedir. Bu bakterilerin yaygınlık oranı biberonla beslenen çocuklarda, anne sütüyle beslenen veya karışık beslenen çocuklara kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir (%76). Bu bulgu, Ali (2009) tarafından daha önce yapılan ve biberonla beslenen veya karışık beslenen bebeklere kıyasla anne sütüyle beslenen bebeklerde daha düşük oranda *E. coli* enfeksiyonu gözlemlenen bir çalışmayla da tutarlıdır. Buna karşılık, Şekil 4.3'te API sistemi kullanılarak mikroorganizmaların teşhis edilmesi süreci gösterilmektedir.



Şekil 4.3. API sistemi kullanılarak *E. coli* bakterilerinin tanınması.

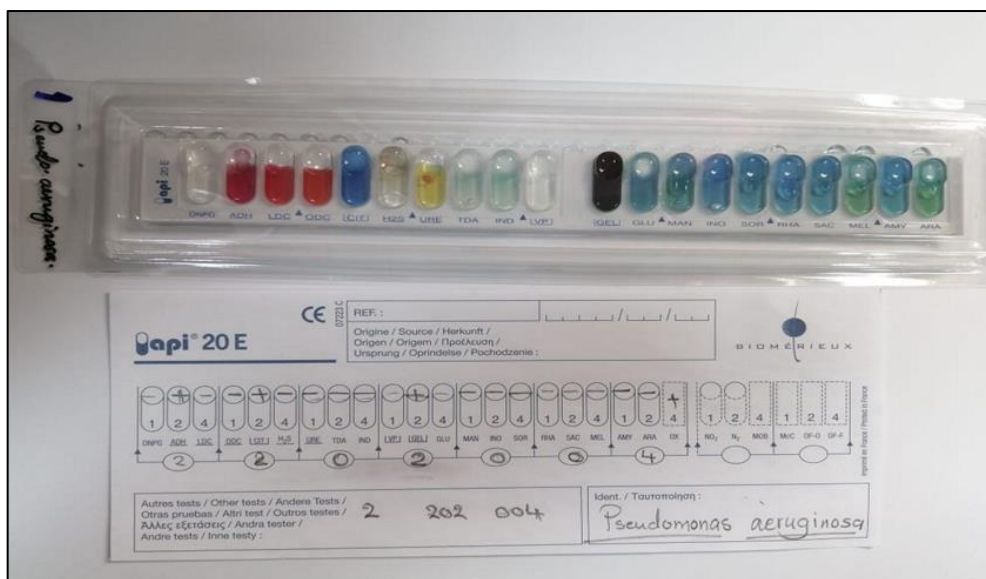
#### 4.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Mevcut araştırmanın bulguları, ishalden muzdarip bebeklerin dışkı örneklerinden üç farklı izolatin elde edildiğini ortaya koymaktadır. *P. aeruginosa*'nın varlığı Şekil 4.4'te gösterildiği gibi %5.3 oranında tespit edilmiştir. Buna karşılık, Şekil 4.5 API sistemi kullanılarak mikroorganizmaların teşhis edilme sürecini göstermektedir.

Ayrıca, izolatları ve cinsleri sınıflandırmak için koloninin rengi, dokusu, metalik parlaklığı ve pigment sentezi gibi özellikleri kullanılmıştır. *P. aeruginosa* için moleküler düzeyde yapılan tanı testlerinde, indol testi, H<sub>2</sub>S testi, M-R testi ve V-P testi sonuçlarının tümü negatif olup sırasıyla indol, hidrojen sülfür, karışık asit fermantasyonu ve asetonin üretiminin olmadığını göstermiştir. Ancak, oksidaz testi, üreaz testi, sitrat kullanım testi, motilite testi ve katalaz testinin tümü, sırasıyla oksidaz enzimi, üreaz enzimi, sitrat kullanım yeteneği, motilite ve katalaz enziminin varlığını gösteren pozitif sonuçlar vermiştir.



Şekil 4.4. MacConkey agar üzerinde *P. aeruginosa* izolatları.

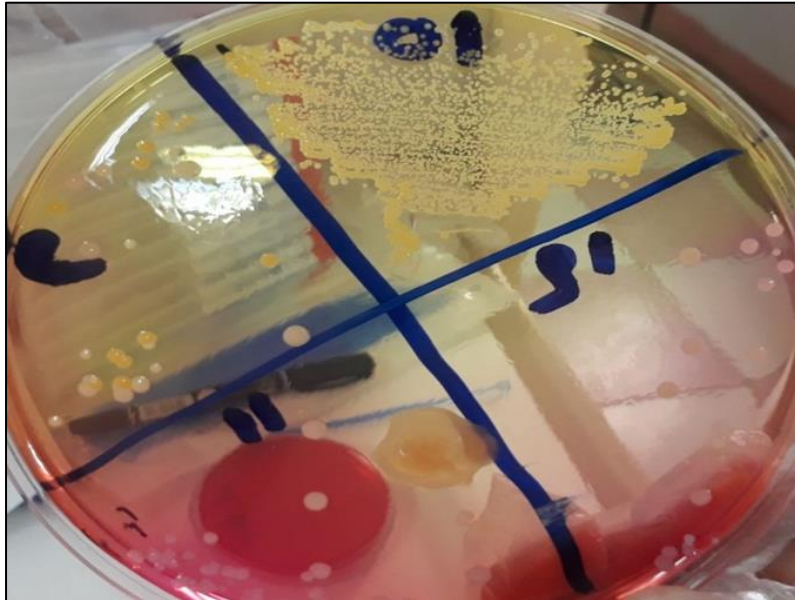


Şekil 4.5. API sistemi kullanılarak *Pseudomonas* bakterilerinin tanınması.

*P. aeruginosa*'nın enfeksiyöz ishale neden olması nadirdir. Tipik olarak, bağışıklık sistemi zayıflamış bir kişide hastane kaynaklı bir enfeksiyona işaret etmektedir (Porco ve ark., 1995). Kemoterapiye bağlı ishalde, normal fekal mikrofloranın bileşiminde bir değişiklik olur. Birçok hastada anaerobik bakterilerin oranında bir düşüş yaşanırken, aerobik ve oksijene toleranslı bakterilerin sayısında bir artış olur. (Stringer ve ark 2007) tarafından yapılan araştırmaya göre, *P. aeruginosa* izolatlarının %80'inden fazlası sitotoksik aktivite sergilemiş ve bakterilerin %40'undan fazlası insan bağırsağında yaşama kabiliyetine sahip olmuştur. İzolatların birçoğu yavru farelerde hafif enterotoksijenik aktivite sergilemiş ve birkaçı da klindamisin ile önceden tedavi edilmiş sıçanlarda enterit semptomlarına ve belirtilerine neden olmuştur (Adlard ve ark., 1998).

#### 4.2.3. *Staphylococcus* türleri

Mevcut araştırmanın bulguları, ishalden muzdarip bebeklerin dışkı örneklerinden altı farklı izolatın elde edildiğini ortaya koymaktadır. *S. aureus*'un varlığı Şekil 4.6'da gösterildiği gibi %10.5 oranında görülmektedir. Buna karşılık, Şekil 4.7'de API sistemi kullanılarak mikroorganizmaların tanılanması süreci gösterilmektedir. *S. aureus* için tanı testlerinde, oksidaz, üreaz, indol ve V-P testlerinin sonuçları Tablo (4-4) ve (4.5)'de gösterildiği gibi negatif çıkmıştır. Ancak, M-R testi, sitrat testi, motilite testi ve katalaz testinin tümü pozitif sonuç vermiştir.



Şekil 4.6. Mannitol salt agar üzerinde *S. aureus*.



Şekil 4.7. API sistemi kullanılarak *S. aureus*'un tanınması.

Tablo 4.4. İzole edilen gram negatiflerin biyokimyasal testleri.

Biyokimyasal Test Türü	Katalaz	Kliguler testi	Motilite	H <sub>2</sub> S	Simmon sitrat	V-P	M-R	İndol	EMB	Oksidaz
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+

Tablo 4.5. İzole edilen gram pozitiflerin biyokimyasal testleri.

Biyokimyasal Test Türü	Motilite	Hemoliz	Üreaz Testi	Mannitol Tuz Agar	Koagülaz	Oksidaz	Katalaz	Gram boyama
<i>Staph. aureus</i>	-	<b>B</b>	+	+	+	-	+	+

### 4.3. Parazit Tanısı

Hastaneye kabulü sırasında bebeğin dışkıında *E. histolytica* varlığı tespit edilmiştir. Dışkı örneği kapsamlı bir şekilde analiz edilmiş ve enfeksiyon varlığını doğrulamak için tanımlanmıştır. Mukus benzeri bir dokuya sahip bir ishal vakası görülmüştür.

Örneklerden lamalar hazırlanmış ve Şekil 4.8'de gösterildiği gibi parazitin dışkısının kistik fazı ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 4.8. Bebeklerin dışkıсында *E. histolytica*'nın kistik evresi.

Tablo 4.6'da sunulan veriler, yenidoğanlarda ishale neden olan bir tür mikroorganizma olan *E. histolytica*'nın, vakaların %25.3'ünü oluşturarak hastalarda bulunan baskın enteropatojen olduğunu göstermektedir. Çevresel ve eğitimsel koşulların yanı sıra sosyal ve kültürel uygulamaları da içeren yoksulluk, farklı bölgelerdeki çeşitli gruplar arasında ishal prevalansı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Çocuklarda parazit enfeksiyonlarının yüksek prevalansı, parazitlerin fekal-oral yolla, bir çocuktan diğerine ya da kontamine gıda ve/veya su yoluyla giardiazise yol açacak şekilde bulaşmasına bağlanabilir (Paniker, 2002). Amebiyaz enfeksiyonu oranı, dışkılarında *E. histolytica* kistlerinin sürekli olarak atılması nedeniyle önemli bir enfeksiyon kaynağı olan asemptomatik hastaların varlığından etkilenmektedir (Markell ve ark., 1999).

*E. histolytica* enfeksiyonu prevalansı erkeklerde (%66.7, 21 vakanın 14'ü) kadınlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Erkek olmak, *E. histolytica* enfeksiyonuna yakalanma riskinin oldukça yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Diğer çalışmalar da asemptomatik *E. histolytica* enfeksiyonunun cinsiyetler arasında eşit dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak, bir çalışmada (Acuna-Soto ve ark., 2000) erkeklerin invazif amebiyaz geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu bulunmuştur; bu durum erkeklerin ciddi hastalığa karşı daha duyarlı olabileceğini düşündürmektedir. Başka bir çalışmada (Tasawar ve ark., 2010) *E. histolytica* enfeksiyonunun erkek konakçılarda (%22.36) kadın konakçılara (%20.9) kıyasla daha yaygın olduğu bulunmuştur.

**Tablo 4.6.** İzole edilen bakteri yüzdeleri.

<i>E. histolytica</i>	N	%
Erkek	14	66.7
Kadın	7	33.3
Toplam	21	100

*E. histolytica* ile enfekte olan 1 yaşın altındaki bebekler, ağızdan beslenmede daha fazla zorluk, sık sık gevşek bağırsak hareketleri ve dehidrasyon yaşama eğiliminde olup bu durum genellikle hastaneye yatışa neden olmaktadır. Buna karşılık, 1 yaşın üzerindeki çocuklarda bebeklere kıyasla daha belirgin bir karın ağrısı semptomu görülmektedir. Bu olaylar, düzenli ishal yaşayan ve ağızdan beslenmeyi tolere etmekte zorlanan yenidoğanların dehidrasyona yol açan artan duyarlılığına bağlanabilir. Bu durum küçük bebeklerde daha büyük çocuklara kıyasla daha yaygındır.

Daha büyük çocuklarda mide ağrısı görülme sıklığının daha yüksek olması, sadece spesifik olmayan hıçkırıklar gösterebilen küçük bebeklere kıyasla duygularını daha etkili bir şekilde ifade etmelerini sağlayan daha büyük gelişimsel olgunluklarına bağlanabilir.

Hem 1 yaş altı hem de 1 yaş üstü bebeklerin önemli bir kısmında (sırasıyla %63.6 ve %64.5) çok yüksek dereceli ateş görülmüştür. Bu durum daha önceki çalışmalarda hastaların sadece üçte birinde rapor edilmiştir (John ve Salata 2010). Ulusların evrimi, gelişmekte olan ülkeler de dâhil olmak üzere tüm ülkeleri kapsayan, dünya üzerindeki bireysel varoluşla ilgili günlük meşguliyetlerle ilgilidir. En önemli hedefleri sağlık, güvenlik ve hastalıklardan uzak bir yaşam sağlamaktır. Bunu başarmak için, temiz içme suyuna erişimin sağlanması, sağlıklı beslenmenin teşvik edilmesi, çevrenin korunmasına yüksek öncelik verilmesi ve erken eğitim kurumlarının performansının yakından izlenmesi gibi yaşamın sürdürülmesi için temel gerekliliklere odaklanmak önemlidir. Çok sayıda araştırma, en yaygın amoebiasis enfeksiyonlarının bulaşmasının *E. coli*, *E. nana* ve *E. hartmanni* gibi kistler yoluyla gerçekleşmediğini kanıtlamıştır. Bu tür enfeksiyonlar her iki cinsiyeti de eşit derecede etkileyebilir (Walsh ve ark., 1986). Önceki araştırmalar *E. histolytica*'nın anatomik yapısı nedeniyle erkekleri kadınlara kıyasla daha fazla enfekte etme eğiliminde olduğunu göstermiştir. Amibiyaz enfeksiyonu vakaları üzerinde yapılan bir takip sonucunda, enfekte olan erkeklerin oranının kadınlardan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu soruna neden olan önemli bir faktör de çocukların uzun süreli davranışlarının ve oyuncaklarının nerede olduğunun izlenememesidir. Buna ek olarak, yiyecek, giyecek ve yatak takımlarının kontamine olma riski de bulunmaktadır. Ayrıca,

hormonların etkisi cinsiyete göre değişmekte ve bu da bağışıklık sistemini ve etkinliğini etkilemektedir.

Ayrıca, *E. histolytica*'lı hastaların çoğunluğu 11 ila 21 ay arasında olup, önemli bir yüzdesi sırasıyla 10 aydan küçük ve 21-30 ay yaş aralığındadır. Bu olgu, zayıf bir reaksiyonla sonuçlanan nispeten güçlü bir bağışıklık sisteminin potansiyel varlığı ile açıklanabilir. Bu bakış açısı, *E. histolytica*'nın CRD-aktif bölgesine karşı IgA'nın sınırlı bir bağışıklık tepkisi verdiğini gösteren önceki araştırmalarla uyumludur (Gatti ve ark., 2002). Dikkat çekici bir şekilde, kırsal alanlara kıyasla kentsel bölgelerde önemli ölçüde daha yüksek bir enfeksiyon prevalansı gözlemlenmiştir. Ne yazık ki bunun nedeni, sağlık ve çevre sektörlerindeki yetersiz hizmet sunumuna bağlanabilir. Irak'taki birçok metropol bölgesi, yetersiz sağlık izleme ve takibi, yüksek çevresel kirlenme ve kaynak kıtlığı gibi zorluklarla karşı karşıyadır. Bitki örtüsünün varlığı havanın ve gıda kaynaklarının kirlenmesine neden olmuştur.

Ayrıca, enfekte olan bireylerin ezici çoğunluğu çoğaltmak amacıyla evcil hayvan sahibi değildir. Bu durum, hayvanlar ile enfeksiyon arasında bir korelasyon olmadığını göstermektedir. *E. histolytica* enfeksiyonunun yaygınlığı Irak'ta, özellikle de Diyala bölgesinde karmaşık bir seyir izlemiştir. Çok sayıda araştırma, *E. histolytica*'nın neden olduğu enfeksiyonların tipik olarak çok az semptomdan neredeyse hiç semptom göstermemeye kadar değişen küçük semptomlarla sonuçlandığını tutarlı bir şekilde göstermiştir (Haque ve ark., 2003).

Son çalışmamızın bulgularının aksine, tüm katılımcılar karın ağrısı ve renkleri değişkenlik gösteren şiddetli veya orta şiddette ishal yaşamıştır. Sonuç olarak, mikroskopik inceleme için dışkı örnekleri toplanmıştır. Morfolojik açıdan bakıldığında, örneklerin çoğunluğu dışkılarında kahverengi bir renk sergilemiştir. Bu olgu, karaciğerde yağların sindirime yardımcı olan safra salgısının yüksek oranda olmasına bağlanabilir. Alternatif olarak, sindirim sisteminin zarar görmesinden kaynaklanan hastalıklar da buna neden olabilir. Bazı bireylerde sarı renkli dışkı görülmüştür. Olası açıklamalar arasında besin kaynaklarındaki farklılıklar veya sindirim sürecinde enfeksiyonu engelleyen fizyolojik aksaklıklar yer almaktadır. İrin hücreleri, kistler ve kırmızı kan hücrelerinin varlığını belirlemek için bir değerlendirme yapılmıştır. Bulgularımız, her bir bölgede irin hücreleri, kistler ve eritrositlerin varlığının 10'a eşit veya daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bazı katılımcılarda artı 1 değerini aşan düzeyler tespit edilmiş olup bu durum ciddi bir *E. histolytica* enfeksiyonuna işaret etmekte ve sindirim sisteminde ciddi bir iltihaplanmaya yol açmaktadır.

#### 4.4. Maya İzolatlarının Tanılanması

*Candida* türleri tanısı, kültürel ve mikroskopik özelliklerin yanı sıra biyokimyasal testlerin incelenmesiyle konulmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği kullanılarak tanının doğrulanmasına ek olarak, *Candida* ayrıca CHROM Agar *Candida* besiyerinde de tanımlanmıştır.

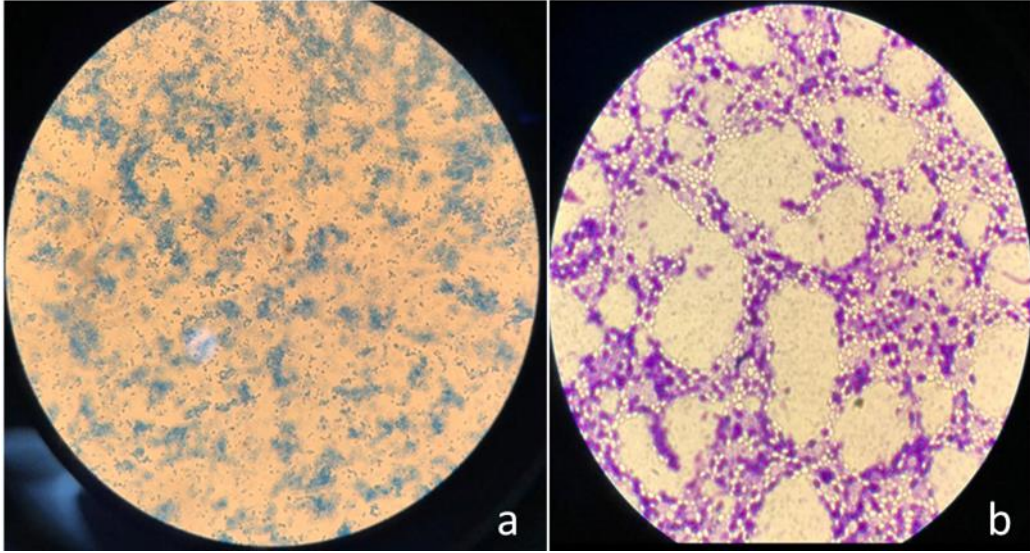
##### 4.4.1. Morfolojik ve mikroskopik özellikler

SDA besiyerinde 37°C sıcaklıkta 24-48 saat süreyle yetiştirilen *Candida* kolonilerinin morfolojik özellikleri beyazdan kreme kadar değişen bir renk aralığı sergilemiştir. Şekil 4.9'da gösterildiği gibi dışbükey bir şekil, pürüzsüz bir doku sergilemişler ve belirgin bir koku yaymışlardır (Bhavan ve ark., 2010).



**Şekil 4.9.** SDA besiyerinde (24-48) saat süreyle 37°'de *Candida* türleri kolonileri.

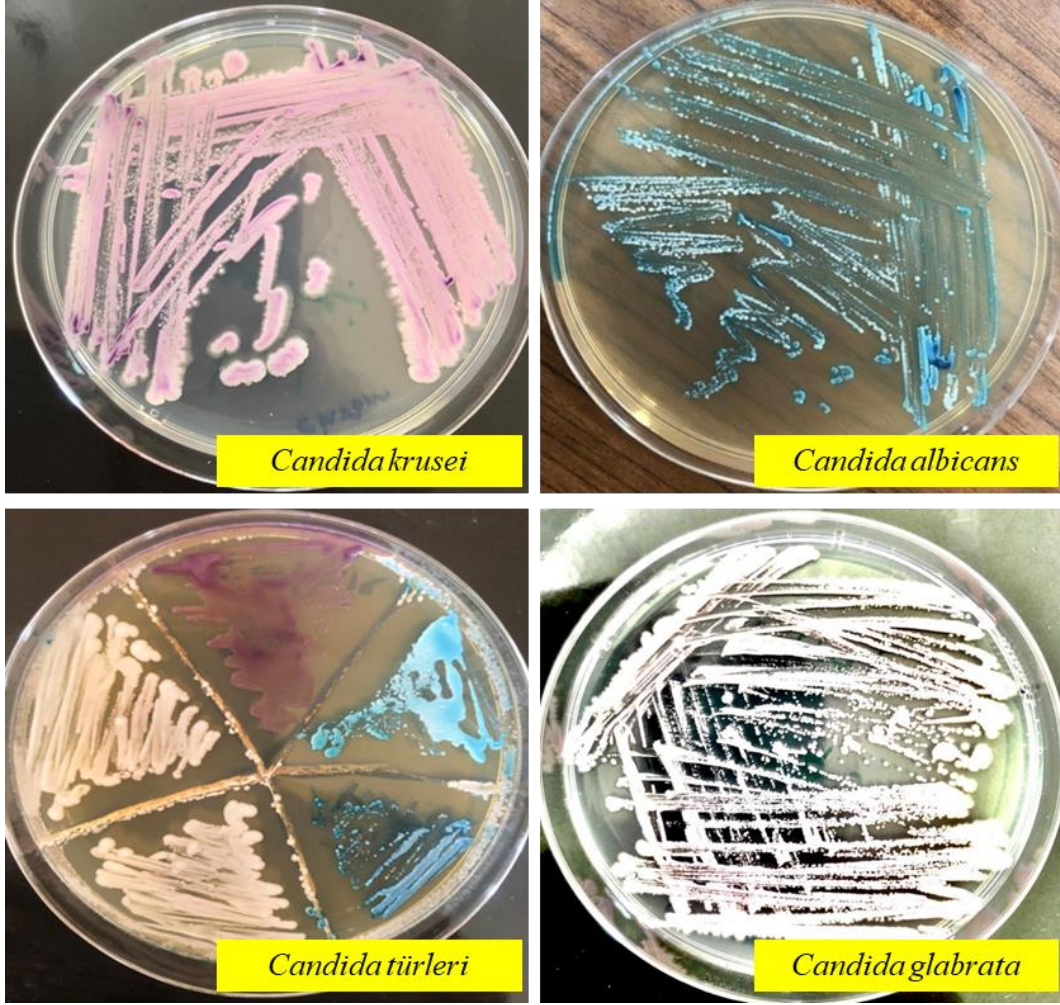
Koloniler laktofenol mavisi ve Gram boyası ile boyandıktan sonra mikroskop altında incelenmiştir. Hücrelerin küreselden oval veya uzunlamasına bir şekle sahip olduğu veya tek ya da tomurcuklanmış oldukları görülmüştür (Ellis ve ark., 2007). Şekil 4.10'da gösterildiği gibi, mayalar Kristal Menekşe boyası ile boyandıktan sonra Laktofenol Pamuk Mavisi boyasına kıyasla daha belirgin bir şekilde görülmüştür. Maya hücrelerinin mavi renk alması, hücre duvarındaki peptidoglikan tabakanın boyayı tutmasının bir sonucudur (Sudbery ve ark., 2004). *Candida* hücreleri gram-pozitif olarak sınıflandırılır (Anderson ve Soll, 1986). Ayrıca, laktofenol mavisi boyası mantar hiflerinin ve klamidya sporangiyasının gözlemlenmesinde önemli bir işlev görür (Webb ve ark., 1998).



**Şekil 4.10.** Gram boyası ile boyanmış *C. albicans* mayası (a) (100X büyütme altında) (b) laktofenol ile boyanmış (40X büyütme altında).

#### 4.4.2. Chrom agar *Candida* üzerinde tanı

CHROM Agar *Candida* besiyeri kullanılarak *Candida* türlerinin tanısı, bu özel besiyerinde farklı renkler sergileyen kolonilerin varlığını ortaya çıkarmıştır. Chrom Agar *Candida* besiyeri, farklı türler arasında ayırım yapmak için kullanılan ayırıcı bir besiyeri olarak sınıflandırılmaktadır. *C. albicans* mayası yeşil bir renk tonu olarak ortaya çıkmıştır; *C. glabrata* mayası soluk pembe ile krem rengi olarak ortaya çıkmıştır ve maya da bulunmuştur. *C. krusei*, Şekil 4.11'de gösterildiği ve Tablo 4.7 ve üretici talimatları ile desteklendiği üzere koyu pembe bir renk sergilemektedir. Bu sonuç Al-Bajilan (2016), Ali (2015), Al-Hamdani (2020) ve Kumar ve Edward (2014) tarafından yapılan bulgularla uyumludur.



Şekil 4.11. CHROM Agar besiyerinde 24-48 saat süreyle 37°C'de *Candida* türleri tanısı.

#### 4.4.3. 45 °C'de büyüme testi

Bu testin amacı *C. albicans*'ı diğer *Candida* türlerinden ayırt etmek olmuştur. Bulgular, *C. albicans*'ın bu spesifik sıcaklıkta gelişen tek *Candida* türü olduğunu, diğer *Candida* türlerinin ise Tablo 4.7'de gösterildiği gibi aynı koşullar altında gelişemediğini göstermiştir. Bu bulgu Abbas (2013) tarafından ortaya konan araştırma bulgularıyla örtüşmektedir. *C. albicans* mayası, yüksek sıcaklıktaki ortamlarda gelişen bu mantarın bir özelliği olan termotoleransı nedeniyle 45°C sıcaklıkta gelişebilmektedir (Pinjon ve ark., 1998).

İzolasyon ve teşhis sürecinin ardından, idrar yolu enfeksiyonu geçiren hamile kadınlardan üç farklı *Candida* mayası suşu elde edilmiştir. Tablo 4.7, çeşitli *Candida* mayası türleri arasında kayda değer farklılıklar ( $P < 0.05$ ) olduğunu göstermektedir.

*Candida albicans* insan dışkısında bulunan baskın maya türüdür. Yetersiz beslenen çocukların dışkılarında ishalle birlikte sıklıkla büyük miktarlarda bulunur. Ayrıca, ishalleri çocukların dışkılarında tek etken olarak gözlenmiştir (Krause ve Reisinger,

2005). Birden fazla *Candida* türü enfeksiyonunun varlığı göz önüne alındığında, Tablo 4.7 *C. albicans*'in en yüksek prevalansa (%60.0) sahip olduğunu, *C. glabrata*'nın %26.7 ile ikinci sırada yer aldığını ve *C. krusei*'nin en düşük prevalansa (%13.3) sahip olduğunu göstermektedir.

**Tablo 4.7.** Çalışma sırasında izole edilen *Candida* türlerinin sayısı ve yüzdesi.

<i>Candida</i> Türleri	N	%
<i>Candida albicans</i>	9	60.0
<i>Candida glabrata</i>	4	26.7
<i>Candida krusei</i>	2	13.3
Toplam	15	100.0

Jobst ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada, gastrointestinal sistemde en sık tanımlanan cinsin *Candida* türleri olduğunu ve *C. albicans*'in en sık izole edilen tür olduğunu ortaya koymuşlardır. *C. tropicalis* ikinci en yaygın tür olarak bulunmuştur. Amer ve arkadaşları (2005) yaptıkları çalışmada, toplam 32 dışkı örneğinin %93.7'sinde pozitif kültürler olduğunu, %15.6'sında ise karışık enfeksiyonlar bulunduğunu tespit etmiştir. En yaygın bulunan suşlar *C. tropicalis* (%50), *C. albicans* (%26.7), *C. krusei* (%20) ve *C. glabrata* (%3.3) olmuştur. Vaishnavi ve ark (2008) göre, antibiyotik kullanımını takiben gastrointestinal sistemde en sık görülen mantar enfeksiyonu *Candida*'dır.

Ponnuvel ve ark (1996) ishali hastaların dışkı örneklerinde bulunan tek etkenin *Candida* olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca, tedaviden sonra semptomların iyileştiğini gözlemlemişlerdir. Yetersiz beslenen çocukların dışkılarında genellikle yüksek miktarda *Candida* türleri bulunmakta ve buna genellikle ishal eşlik etmektedir (Danna ve ark., 1991). Ayrıca, yenidoğanlarda antibiyotikle ilişkili ishale katkıda bulunan potansiyel bir faktör olarak öne sürülmüştür (Dongyou 2017). Uppal ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, *Candida* izolatlarının %56.3'ünün tek izolat olarak, %43.7'sinin ise karışım olarak elde edildiğini tespit etmiştir. En sık karşılaşılan tür, izolatların %52'sini oluşturan *C. krusei* olurken, bunu *C. tropicalis* (%16), *C. albicans* (%0.02) ve *C. parapsilosis* (%0.01) izlemiştir. Hem *Candida albicans* hem de *C. tropicalis*, toplamın %12'sini oluşturan bir karışım halinde bulunmuştur. Ayrıca, *C. krusei* ve *C. tropicalis*'in bir karışımı ayrılarak toplamın yaklaşık %16'sını oluşturmuştur. Bangladeş'te mantar ishali üzerine yaptıkları çalışmada Enweani ve arkadaşları (1994), vakaların %59.4'ünü oluşturan *C. albicans*'in baskın tür olduğunu tespit etmiştir. Bunu %5.0 ile *C. pseudotropicalis* ve %30.9 ile *C. tropicalis* takip etmiştir. Almanya'da yapılan bir

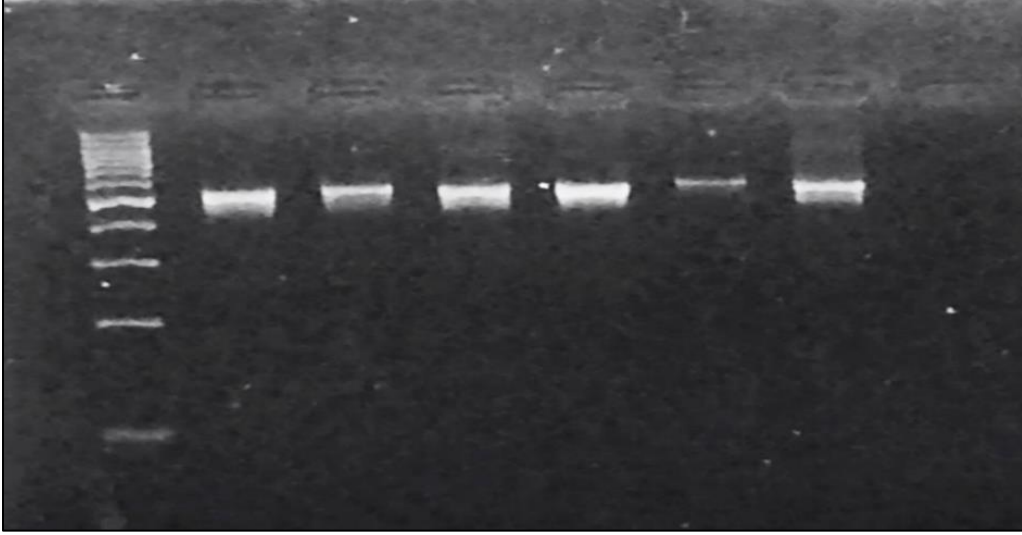
çalışmada, Krause ve arkadaşları (2001) ilaca bağlı ishali olan hastalar arasında en sık tespit edilen izolatların *Candida albicans* (%55) olduğunu, bunu *C. glabrata* (%26), *C. tropicalis* (%5), *C. krusei* (%3) ve diğer *Candida* türlerinin (%25) izlediğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, (Banerjee ve ark 2013) kronik ishal vakalarından izole edilen *Candida* türleri arasında en sık *C. tropicalis*'in (%43.8) görüldüğünü, bunu *C. albicans* (%15.6), *C. krusei* (%15.6) ve *C. famata*'nın (%6.3) izlediğini ortaya koyan yeni bir çalışma yürütmüştür. Bu çalışmadaki hastaların çoğunluğu sefalosporinler, aminoglikozidler ve makrolidler gibi bir veya daha fazla antibiyotiğin uygulanmasını içeren antibiyotik tedavisi almıştır. Payne ve arkadaşları (2003) normal bağırsak florasının varlığının *C. albicans*'a doğal direnç kazandırabileceğini, ancak antibiyotik kullanıldığında bu direncin azaldığını göstermiştir. Helstrom ve diğerlerine (1979) göre, antibiyotik kullanımı bağırsaklardaki doğal bakterileri azaltmakta ve bu da *Candida* türlerinin kısıtlama olmaksızın çoğalmasına olanak sağlamaktadır. Araştırmacılar ayrıca antibiyotik kullanımının bağırsak astarının yapısına zarar verebileceğini ve bağışıklık tepkisini değiştirerek *Candida* türlerinin enfeksiyona neden olmasını kolaylaştırabileceğini öne sürmüştür. Chaudhury ve arkadaşları (1996) çalışmalarında, araştırmalarına dahil edilen 26 klinik suşun çoğunun dışkı örneklerinden elde edildiğini ve en yaygın olanının *C. albicans* olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Bishop ve ark (1974) akut gastroenterit geçiren ve 1 yaşından küçük bebeklerin %33'ünün dışkısında *C. albicans* varlığını tespit etmiştir. Chaudhury ve arkadaşları (1996) 12 aylık veya daha küçük bebeklerde önemli oranda *Candida albicans* enfeksiyonu görüldüğünü ortaya koymuştur. İleri yaş, antibiyotik ve steroid kullanımı gibi faktörler *Candida* ishali gelişme olasılığını artırabilir (Maroszyńska ve ark., 2013). Bu durum mevcut araştırmada elde edilen bulgularla örtüşmektedir. Kentsel hastalara kıyasla kırsal kesimdeki hastalarda *Candida* seroprevalansının artması, yetersiz kişisel temizlik, uygun atık bertarafının olmaması, kontamine su kaynağı ve geniş ailelerin varlığı gibi faktörlere bağlanabilir (Gracey ve Stone 1973).

#### **4.4.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisi kullanılarak moleküler tanı konulması**

*Candida* mayalarının tanısı, altı *Candida* izolatı için PCR teknolojisi kullanılarak doğrulanmıştır. Bu yöntem gerekli olmuştur zira fenotipik kriterlerin belirlenmesine dayanan olağan tanı yöntemleri yeterli olmamıştır. Bu kriterler aynı cins içindeki diğer türlerinkilerle örtüşebilir ve aralarında genetik varyasyon olabilir. Belirli bir grup içinde

bile mikrobiyal kültürler, genetik yapıda bir farklılığa işaret etmeksizin farklı fenotipik ve büyüme özelliklerine sahip olabilir. Bu durum özellikle aynı cins ve tre ait çiftlikler ve izolatlar için geçerlidir (Mohieldin ve Jeegan, 2013).



**şekil 4.12.** *Candida* türleri ITS genini çoğaltmak için agaroz jel kullanılarak yapılan elektroforez.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuç

Mevcut bulgulara göre, erkek bebeklerin kızlara kıyasla farklı mikroplar nedeniyle akut ishale daha yatkın olduğu tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmadan *E. coli*'nin bebeklerde akut ishale neden olan en tehlikeli bakteri türü olduğu sonucuna varılmıştır.

*Histolytica*, bebeklerde akut ishalin önemli bir nedenidir ve dehidrasyon ve çeşitli sağlık sorunlarının bir nedeni olarak kabul edilmektedir.

Maya enfeksiyonları bebeklerde akut ishale neden olmada önemli bir rol oynamaktadır ve *C. albicans* bu çalışmada teşhis edilen diğer maya türleri arasında en tehlikeli olanıdır.

### 5.2. Öneriler

Bebeklerde ishal görülme sıklığında artışa neden olduğu için bebek hijyenine dikkat edilmesi ve suni beslenmeden kaçınılması önemlidir.

Enfeksiyonun bebekler üzerindeki etkisinin boyutunu belirlemek için akut ishalleri bebeklerde bazı fizyolojik parametreler üzerinde çeşitli çalışmalar yürütülmelidir.

Bebeklerde akut ishale neden olan birçok farklı bakteri ve parazit türünün tanısını doğrulamak için birçok genetik çalışma yürütülmelidir.



## 6. KAYNAKLAR

- Abbas, Z. A., Aziz, S., & Abdul-Mueed, A. (2014). Epidemiological and molecular study for *Candida* spp in Vagina. *Med J Babylon*, 11(1), 110-9.
- Abram, S.B. (2005). Control of Communicable diseases Manual. 16th ed. *Am Public Health Assoc*; 250-254.
- Acuna-Soto, R., Maguire, J. H., & Wirth, D. F. (2000). Gender distribution in asymptomatic and invasive amebiasis. *The American journal of gastroenterology*, 95(5), 1277-1283.
- Adlard, P. A., Kirov, S. M., Sanderson, K., & Cox, G. E. (1998). *P. aeruginosa* as a cause of infectious diarrhoea. *Epidemiology & Infection*, 121(1), 237-241.
- Afzal, A., & Andrades, M. (2017). Association of Socio-Demographic Factors with Dietary Practices of Mothers in Under-Five Children with Diarrhea. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 3, 236-241.
- Ahs, J. W., Tao, W., Löfgren, J., & Forsberg, B. C. (2010). Diarrheal diseases in low-and middle-income countries: incidence, prevention and management. *Open Infect Dis J*, 4(1), 113-124.
- Al-Bajalan, M. M., Al-Jaf, S. M., Niranji, S. S., Abdulkareem, D. R., Al-Kayali, K. K., & Kato, H. (2018). An outbreak of *Leishmania major* from an endemic to a non-endemic region posed a public health threat in Iraq from 2014-2017: Epidemiological, molecular and phylogenetic studies. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(3), e0006255.
- Al-Hamdani, H., & Al-Hashimy, A. (2020). Molecular detection of UREC, HPMA, RSBA AND MRPA genes of *Proteus Mirabilis* urinary tract infection in patient with rheumatoid arthritis. *The Iraqi Journal of Agricultural Science*, 51, 245-251.
- Alhazmi, A. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*-pathogenesis and pathogenic mechanisms. *International Journal of Biology*, 7(2), 44.
- Ali, C. I., Mahmood, A. R., Jafar, N. A., & Khorsheed, S. (2009). Prevalence of enteropathogenic diarrhea in Children up to 2 years in Kirkuk province. *Tikrit Medical Journal*, 15(2), 124-131.
- Ali, I. K. M., Hossain, M. B., Roy, S., Ayeh-Kumi, P. F., Petri Jr, W. A., Haque, R., & Clark, C. G. (2003). *Entamoeba moshkovskii* infections in children in Bangladesh. *Emerging infectious diseases*, 9(5), 580.

- Al-Kubaisy, W., Al Badre, A., Al-Naggar, R. A., & NI, N. S. (2015). Epidemiological study of bloody diarrhoea among children in Baghdad, Iraq. *International Archives of Medicine*, 8, 1-9.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6235-6254.
- Allos, B. M., Moore, M. R., Griffin, P. M., & Tauxe, R. V. (2004). Surveillance for sporadic foodborne disease in the 21st century: the FoodNet perspective. *Clinical Infectious Diseases*, 38(3), 115-120.
- Al-Mustapha, A. I., Adetunji, V. O., & Heikinheimo, A. (2020). Risk perceptions of antibiotic usage and resistance: A cross-sectional survey of poultry farmers in Kwara State, Nigeria. *Antibiotics*, 9(7), 378.
- Amer, S. M., Elsilk, S. E., Shamma, G. I., El-Souod, S. M., & El-Marhomy, A. F. (2005). Epidemiological study on human candidiasis in Tanta hospitals. *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, 11(2), 207.
- Amugsi, D. A., Aborigo, R. A., Oduro, A. R., Asoala, V., Awine, T., & Amenga-Etego, L. (2015). Socio-demographic and environmental determinants of infectious disease morbidity in children under 5 years in Ghana. *Global health action*, 8(1), 29349.
- Anderson, J. M., & Soll, D. R. (1986). Differences in actin localization during bud and hypha formation in the yeast *Candida albicans*. *Microbiology*, 132(7), 2035-2047.
- Angulo, F. J., & Scallan, E. (2007). Activities, achievements, and lessons learned during the first 10 years of the Foodborne Diseases Active Surveillance Network: 1996–2005. *Clinical Infectious Diseases*, 44(5), 718-725.
- Antão, E. M., Wieler, L. H., & Ewers, C. (2009). Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Gut pathogens*, 1, 1-12.
- Armon, K., Stephenson, T., MacFaul, R., Eccleston, P., & Werneke, U. (2001). An evidence and consensus based guideline for acute diarrhoea management. *Archives of disease in childhood*, 85(2), 132-142.
- Asfaha, K. F., Tesfamichael, F. A., Fisseha, G. K., Misgina, K. H., Weldu, M. G., Welehaweria, N. B., & Gebregiorgis, Y. S. (2018). Determinants of childhood diarrhea in Medebay Zana District, Northwest Tigray, Ethiopia: a community based unmatched case–control study. *BMC pediatrics*, 18, 1-9.

- Aydogdu, H., Asan, A., & Tatman Otkun, M. (2010). Indoor and outdoor airborne bacteria in child day-care centers in Edirne City (Turkey), seasonal distribution and influence of meteorological factors. *Environmental monitoring and assessment*, *164*, 53-66.
- Ayed, L. B., Sabbahi, S., Rose, J. B., & Jiménez-Cisneros, B. (2017). *Entamoeba histolytica*. Global Water Pathogen Project. Michigan: Michigan University, E. Lansing, MI, Unesco.
- Ayele, A., Awoke, W., & Tarekegn, M. (2014). Crosssectional survey; assessment of diarrheal disease prevalence and the associated factors among children under five in Enemay district, northwest Ethiopia. *Global J Med Res*, *13*, 0975-5888.
- Babapour, E., Haddadi, A., Mirnejad, R., Angaji, S. A., Amirmozafari, N. (2016). Biofilm Formation in Clinical Isolates of Nosocomial *Acinetobacter baumannii* and Its Relationship With Multidrug Resistance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, *6*, 528-533.
- Balasubramanian, D., Schneper, L., Kumari, H., & Mathee, K. (2013). A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Nucleic acids research*, *41*(1), 1-20.
- Banerjee, B., Hazra, S., & Bandyopadhyay, D. (2004). Diarrhea management among under fives. *Indian pediatrics*, *41*(3), 255-259.
- Banerjee, P., Kaur, R., & Uppal, B. (2013). Study of fungal isolates in patients with chronic diarrhea at a tertiary care hospital in north India. *Journal de mycologie médicale*, *23*(1), 21-26.
- Baqir, H. E., Al-Hashemi, A. B., Althwani, N. A. (2008). Microbiological study of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from bloody diarrhea in children under ten years old. *Iraqi J Sci*, *49*, 90-94.
- Baron, E. J., Fingold, S. M. (1999). *Diagnostic Microbiology*. 9th ed. Baily and Scotts. The C.V. Mosby company.
- Baron, E. J., Peterson, L. R. & Finegold, S. M. (1994). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th ed., St. Louis, Baltimore, USA.
- Basset, P., Feil, E.J., Zanetti, G. & Blanc, D.S. (2011). *The Evolution and Dynamics of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. In M. Tibayrenc (Ed.), *Genetics and Evolution of Infectious Disease*; (pp. 669-688). London: Elsevier.
- Begum, S., Gorman, H., Chadha, A., & Chadee, K. (2020). Role of inflammasomes in innate host defense against *Entamoeba histolytica*. *Journal of Leucocyte Biology*, *108*(3), 801-812.

- Benson, H. J. (1967). *Microbiological applications*. Wm. C. Brown and Co., Dubuque, Iowa.
- Bergin, S. P., Coles, A., Calvert, S. B., Farley, J., Powers, J. H., Zervos, M. J., & Holland, T. L. (2020). Prophetic: prospective identification of pneumonia in hospitalized patients in the ICU. *Chest*, *158*(6), 2370-2380.
- Betanzos, A., Bañuelos, C., & Orozco, E. (2019). Host invasion by pathogenic amoebae: epithelial disruption by parasite proteins. *Genes*, *10*(8), 618.
- Bhavan, P. S., Rajkumar, R., Radhakrishnan, S., Seenivasan, C., & Kannan, S. (2010). Culture and Identification of *Candida albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. *International Journal of Biology*, *2*(1), 84-93.
- Bianconi, I., Alcalá-Franco, B., Scarselli, M., Dalsass, M., Buccato, S., Colaprico, A., & Bragonzi, A. (2019). Genome-based approach delivers vaccine candidates against *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in immunology*, *9*, 3021.
- Bishop, R. F., Barnes, G. L., & Townley, R. R. W. (1974). Microbial flora of stomach and small intestine in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatrica*, *63*(3), 418-422.
- Biswas, A. K., & Mandal, P. K. (2020). Current perspectives of meat quality evaluation: Techniques, technologies, and challenges. *Meat quality analysis*, 3-17.
- Blessmann, J., Van Linh, P., Nu, P. A. T., Thi, H. D., Muller-Myhsok, B., Buss, H., & Tannich, E. (2002). Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *66*(5), 578-583.
- Boschi-Pinto, C., Velebit, L., & Shibuya, K. (2008). Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. *Bulletin of the World Health Organization*, *86*(9), 710-717.
- Botelho, J., Grosso, F., & Peixe, L. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*-Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug resistance updates*, *44*, 100640.
- Brown, B. J., & Preston, J. F. (1991). L-Guluronan-specific alginate lyase from a marine bacterium associated with sargassum. *Carbohydrate research*, *211*(1), 91-102.
- Brown, N., & Smith, D. (2016). Are viruses alive. *Microbiology Today*, *43*(2), 58-61.
- Castellanos-Castro, S., Bolaños, J., & Orozco, E. (2020). Lipids in *Entamoeba histolytica*: Host-dependence and virulence factors. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *10*, 75.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 2009-2010. *Morb. Mort. Wkly. Rep.*, 62, 41-47.
- Chaudhury, A., Nath, G., Shukla, B., Panda, S., & Singh, T. B. (1996). Diarrhoea associated with *Candida* spp.: incidence and seasonal variation. *Journal of diarrhoeal diseases research*, 110-112.
- Children, U. (2018) Factors Related to the Occurrence of Diarrheal Disease in Under-Five Children of IDP's in Bosaso, Puntland-Somalia. *World Journal of Medical Sciences*, 13(1), 54-9
- Chopra, S., Roger, J., May, M. D. (1989). *Pathophysiology of gastrointestinal disease* (1st ed.). USA.
- Chuang, Y. Y., & Huang, Y. C. (2013). Molecular epidemiology of community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asia. *The Lancet infectious diseases*, 13(8), 698-708.
- Clark, C. G., & Diamond, L. S. (2002). Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clinical microbiology reviews*, 15(3), 329-341.
- Connell, B. J., Quinn, M. A., & Scheuerman, P. (2017). Risk factors of diarrheal disease among children in the East African countries of Burundi, Rwanda and Tanzania. *Global J Med Public Health*, 6(1), 8.
- Cowan, S. T. (1974). *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria* (3rd ed.). Cambridge University Press, London.
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 822-880.
- Danna, P. L., Urban, C., Rahal, J. J., & Bellin, E. (1991). Role of *Candida* in pathogenesis of antibiotic-associated diarrhoea in elderly inpatients. *The Lancet*, 337(8740), 511-514.
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2010). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical microbiology reviews*, 23(3), 616-687.
- De Bentzmann, S., & Plésiat, P. (2011). The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections. *Environmental microbiology*, 13(7), 1655-1665.

- Deka, N. D. (2014). Comparison of Tissue Culture plate method, Tube Method and Congo Red Agar Method for the detection of biofilm formation by Coagulase Negative Staphylococcus isolated from Non-clinical Isolates. *Int J Curr MicrobiolApp Sci*, 3(10), 810-815.
- Den Heijer, C. D., van Bijnen, E. M., Paget, W. J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C. A., & Stobberingh, E. E. (2013). Prevalence and resistance of commensal Staphylococcus aureus, including meticillin-resistant S aureus, in nine European countries: a cross-sectional study. *The Lancet infectious diseases*, 13(5), 409-415.
- Di Cosola, M., Cazzolla, A. P., Charitos, I. A., Ballini, A., Inchingolo, F., & Santacroce, L. (2021). *Candida albicans* and oral carcinogenesis. A brief review. *Journal of Fungi*, 7(6), 476.
- Dongyou, L. (2017). *Laboratory models for infections* (1st Ed.). CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.
- DuPont, H.L. (2008). Diarrheal Diseases (Acute). *Cambridge World History Human Disease*, 676-680.
- Edsel Maurice, T. S. & Robert, A. S. (2016). *Amebiasis* (20th Ed.). Nelson Text Book of Pediatrics. WB Saunders, Philadelphia, 281, 1689-1691.
- El-Dib, N. A. (2017). *Entamoeba histolytica*: an Overview. *Current Tropical Medicine Reports*, 4, 11-20.
- Ellis, D. H., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., & Bartley, R. (2007). Descriptions of medical fungi (Vol. 2). *University of Adelaide*.
- Ellis, M. J. (1994). *The methodology of shew-life determination*. In: *Shelf-life Evaluation of Foods* (eds C.M.D. Man & A.A. Jones). Blackie Academic & Professional, London.
- El-Sheikh, S. M., & El-Assouli, S. M. (2001). Prevalence of viral, bacterial and parasitic enteropathogens among young children with acute diarrhoea in Jeddah, Saudi Arabia. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 25-30.
- Enweani, I. B., Obi, C. L., & Jokpeyibo, M. (1994). Prevalence of *Candida* species in Nigerian children with diarrhoea. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, 12(2), 133-135.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Diagnostic microbiology* (pp. 288-302). St Louis: Mosby.

- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2007). Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clinical microbiology reviews*, 20(3), 511-532.
- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2007). PCR detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* in stool samples from Sydney, Australia. *Journal of clinical microbiology*, 45(3), 1035-1037.
- Fotedar, R., Stark, D., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2012). *Entamoeba moshkovskii* infections in Sydney, Australia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 27, 133-137.
- Francis, V. I., Stevenson, E. C., & Porter, S. L. (2017). Two-component systems required for virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology letters*, 364(11), 104.
- Frankel, G., & Ron, E. Z. (2018). *Escherichia coli, a Versatile Pathogen* (V: 416). Springer.
- Garcia-Nuñez, M., Marti, S., Puig, C., Perez-Brocal, V., Millares, L., Santos, S., & Monsó, E. (2017). Bronchial microbiome, PA biofilm-forming capacity and exacerbation in severe COPD patients colonized by *P. aeruginosa*. *Future Microbiology*, 12(5), 379-392.
- Gatti, S., Swierczynski, G., Robinson, F., Anselmi, M., Corrales, J., Moreira, J. & Scaglia, M. (2002). Amebic infections due to the *Entamoeba histolytica-Entamoeba dispar* complex: a study of the incidence in a remote rural area of Ecuador. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 67(1), 123-127.
- Getu, D., Gedefaw, M. & Abebe, N. (2014) Childhood Diarrheal Diseases and Associated Factors in the Rural Community of Dejen District, Northwest Ethiopia, 2014. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 5, 1-13.
- Ghasemi, E., Rahdar, M., & Rostami, M. (2015). Prevalence of *Entamoeba histolytica/dispar* in drinking water in the city of Shush, Khuzestan Province in 2011. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 4(2), 582-588.
- Gilchrist, C. A., Petri, S. E., Schneider, B. N., Reichman, D. J., Jiang, N., Begum, S. & Petri Jr, W. A. (2016). Role of the gut microbiota of children in diarrhea due to the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *The Journal of infectious diseases*, 213(10), 1579-1585.

- Goldwater, P. N., & Bettelheim, K. A. (2012). Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS). *BMC medicine*, 10, 1-8.
- Gracey, M. & Stone, D. E. (1973). Microbial contamination of the gut: another feature of malnutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 26(11), 1170-1174.
- Gracey, M. (2006). Diarrhea and malnutrition: a challenge for pediatricians. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 22(1), 6-16.
- Gulzar, M. & Zehra, A. (2018). Staphylococcus aureus: A brief review. *Int J Vet Sci Res*, 4(1), 20-22.
- Gunnemann, G. E., Bates, S. T., Knights, D., Lauber, C. L., Stombaugh, J., Knight, R. & Fierer, N. (2013). Microbial biogeography of public restroom surfaces. *PloS one*, 6(11), 28132.
- Habtu, M., Nsabimana, J. & Mureithi, C. (2017). Factors contributing to diarrheal diseases among children less than five years in Nyarugenge District, Rwanda. *J Trop Dis*, 5(2), 238.
- Haiko, J., & Westerlund-Wikström, B. (2013). The role of the bacterial flagellum in adhesion and virulence. *Biology*, 2(4), 1242-1267.
- Hammadi, A. H. (2015). Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria from Al-Rystimya Station and Their Effects on Public Health. *Iraqi Journal of Science*, 56(3C), 2481-2487.
- Haque, R., Mondal, D., Kirkpatrick, B. D., Akther, S., Farr, B. M., Sack, R. B. & Petri, W. A. (2003). Epidemiologic and clinical characteristics of acute diarrhea with emphasis on *Entamoeba histolytica* infections in preschool children in an urban slum of Dhaka, Bangladesh. *American journal of tropical medicine and hygiene*, 69(4), 398-405.
- Harwood, V. J., Whitlock, J., & Withington, V. (2000). Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 3698-3704.
- Heidegger, C.P., Graf, S., Perneger, T., Genton, L., Oshima, T. & Pichard, C. (2016) The Burden of Diarrhea in the Intensive Care unit (ICU-BD): A Survey and Observational Study of the Caregivers' Opinions and Workload. *International Journal of Nursing Studies*, 59, 163-168.

- Helstrom, P. B., & Balish, E. (1979). Effect of oral tetracycline, the microbial flora, and the athymic state on gastrointestinal colonization and infection of BALB/c mice with *Candida albicans*. *Infection and immunity*, 23(3), 764-774.
- Herold, B. C., Immergluck, L. C., Maranan, M. C., Lauderdale, D. S., Gaskin, R. E., Boyle-Vavra, S. & Daum, R. S. (1998). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *Jama*, 279(8), 593-598.
- Higgins, J., Loughman, A., Van Kessel, K. P., Van Strijp, J. A. & Foster, T. J. (2006). Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leucocytes. *FEMS microbiology letters*, 258(2), 290-296.
- Hodges, K., & Gill, R. (2010). Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut microbes*, 1(1), 4-21.
- Hosseini, S. S., Ghaemi, E., Noroozi, A. & Niknejad, F. (2019). Zinc oxide nanoparticles inhibition of initial adhesion and ALS1 and ALS3 gene expression in *Candida albicans* strains from urinary tract infections. *Mycopathologia*, 184(2), 261-271.
- Howie, H., Mukerjee, A., Cowden, J., Leith, J., & Reid, T. (2003). Investigation of an outbreak of *Escherichia coli* O157 infection caused by environmental exposure at a scout camp. *Epidemiology & Infection*, 131(3), 1063-1069.
- Hung, B.V. (2006). *The Most Common Causes of and Risk Factors for Diarrhea among Children Less than Five Years of Age Admitted to Dong Anh Hospital, Hanoi, Northern Vietnam* [Doctoral dissertation, University of Oslo]. Hanoi, Vietnam.
- Hussain, M. B., Hannan, A., Akhtar, N., Fayyaz, G. Q., Imran, M., Saleem, S. & Qureshi, I. A. (2015). Evaluation of the antibacterial activity of selected Pakistani honeys against multi-drug resistant *Salmonella typhi*. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 1-9.
- Hussein, N. R., Assafi, M. S. & Ijaz, T. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonisation amongst healthcare workers in Kurdistan Region, Iraq. *Journal of global antimicrobial resistance*, 9, 78-81.
- Huszczynski, S. M., Lam, J. S., & Khursigara, C. M. (2019). The role of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in bacterial pathogenesis and physiology. *Pathogens*, 9(1), 6.
- Ibrahim, H. I., & Yehia, M. M. (2017). Cervico-Vaginal Candidiasis in Married Women. *Kirkuk University journal/Scientific studies (KUJSS)*, 12(4), 1-22.

- Jafari, A., Aslani, M. M., & Bouzari, S. (2012). *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. *Iranian journal of microbiology*, 4(3), 102.
- Jianghong, M. & Carl, M. S. (2007). *Escherichia coli*. *Foodborne Dis. Humana Pr Inc.* 1-25.
- Jobst, D. & Kraft, K. (2006). *Candida* species in stool, symptoms and complaints in general practice—a cross-sectional study of 308 outpatients. *Mycoses*, 49(5), 415-420.
- John, C. C. & Salata, R. A. (2010). *Amebiasis*. Nelson textbook of pediatrics. Philadelphia: Saunders.
- Kabew, M. G., Alemu, B. M., Mulat, W., Sahilu, G. & Kloos, H. (2019). Risk factors for acute childhood diarrhea: A cross-sectional study comparing refugee camps and host communities in Gambella Region, Ethiopia. *Travel medicine and infectious disease*, 31, 101385.
- Kadhun, S. K. (2019). Study of Trailer Growth in *Candida albicans* Associated with Azoles—Drug Resistance. *Al-Qadisiyah Medical Journal*, 15(2), 25-35.
- Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2019). Shiga toxin-induced haemolytic uraemic syndrome and the role of antibiotics: a global overview. *Journal of Infection*, 79(2), 75-94.
- Kalil, A. C., Metersky, M. L., Klompas, M., Muscedere, J., Sweeney, D. A., Palmer, L. B. & Brozek, J. L. (2016). Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clinical infectious diseases*, 63(5), 61-111.
- Kantor, M., Abrantes, A., Estevez, A., Schiller, A., Torrent, J., Gascon, J., & Ochner, C. (2018). *Entamoeba histolytica*: updates in clinical manifestation, pathogenesis, and vaccine development. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2018(1), 1-6.
- Karch, H., Tarr, P. I. & Bielaszewska, M. (2005). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(6-7), 405-418.

- Kassebaum, N. J., Reiner, R. C., Olsen, H. E., Ikeda, C. T., Echko, M. M., Ballestreros, K. E. & Manguerra, H. (2019). Diseases, injuries, and risk factors in child and adolescent health, 1990 to 2017: findings from the global burden of diseases, injuries, and risk factors 2017 study. *JAMA pediatrics*, 173(6), e190337-e190337.
- Keusch, G. T., Walker, C. F., Das, J. K., Horton, S., & Habte, D. (2016). *Diarrheal Diseases. In: Disease Control Priorities in Developing Countries* (2nd Edt.). Oxford University Press, Oxford, 371-388.
- Khalil, I. A. M., Troeger, C., Rao, P., Forouzanfar, M., Columbara, D., Misra, K. & Mokdad, A. (2016). Assessing the Nonfatal Burden of Childhood Diarrhea Including Malnutrition, Physical Growth, and Cognitive Development. *In Open Forum Infectious Diseases*, 3(1), 1220.
- Khamees, S. S. (2012). Urinary tract infection: causative agents, the relation between bacteriuria and pyuria. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 683-686
- Khan, S. A., Nawaz, M. S., Khan, A. A. & Cerniglia, C. E. (2000). Transfer of erythromycin resistance from poultry to human clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical Microbiology*, 38(5), 1832-1838.
- Kitagawa, K., Shigemura, K., Yamamichi, F., Osawa, K., Uda, A., Koike, C. & Fujisawa, M. (2019). Bacteremia complicating urinary tract infection by *Pseudomonas aeruginosa*: Mortality risk factors. *International Journal of Urology*, 26(3), 358-362.
- Klein, E. Y., Sun, L., Smith, D. L. & Laxminarayan, R. (2013). The changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: a national observational study. *American journal of epidemiology*, 177(7), 666-674.
- Kollef, M. H., Chastre, J., Fagon, J. Y., François, B., Niederman, M. S., Rello, J. & Rehm, C. (2014). Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical care medicine*, 42(10), 2178-2187.
- Koundal, S. & Cojandaraj, L. (2020). *Candida* species—morphology, medical aspects and pathogenic spectrum. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(7), 4015-4021.
- Krause, R. & Reisinger, E. C. (2005). *Candida* and antibiotic-associated diarrhoea. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(1), 1-2.

- Krause, R., Schwab, E., Bachhiesl, D., Daxböck, F., Wenisch, C., Krejs, G. J. & Reisinger, E. C. (2001). Role of *Candida* in antibiotic-associated diarrhea. *The Journal of infectious diseases*, 184(8), 1065-1069.
- Kubes, J. N. & Fridkin, S. K. (2019). Factors affecting the geographic variability of antibiotic-resistant healthcare-associated infections in the United States using the CDC Antibiotic Resistance Patient Safety Atlas. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 40(5), 597-599.
- Kumar, C. & Edward, S. (2005). Molecular survey of aeroplane bacterial contamination. *Journal of applied microbiology*, 99(3), 502-508.
- Kumar, S., Tripathi, V. R., Vikram, S., Kumar, B. & Garg, S. K. (2018). Characterization of MAR and heavy metal-tolerant *E. coli* O157: H7 in water sources: a suggestion for behavioral intervention. *Environment, Development and Sustainability*, 20(6), 2447-2461.
- Kumi-Kyereme, A., & Amo-Adjei, J. (2016). Household wealth, residential status and the incidence of diarrhoea among children under-five years in Ghana. *Journal of epidemiology and global health*, 6(3), 131-140.
- Kwon-chung, J. K. & Bennett, J. E. (1992). Medical Mycolog. *Revistado Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 34(6): 504-508.
- Kwon-Chung, K. J., Varma, A., Edman, J. C. & Bennett, J. E. (1992). Selection of ura 5 and ura 3 mutants from the two varieties of *Cryptococcus neoformans* on 5-fluoroorotic acid medium. *Journal of medical and veterinary mycology*, 30(1), 61-69.
- Li, X., Yin, L., Ramage, G., Li, B., Tao, Y., Zhi, Q. & Zhou, Y. (2019). Assessing the impact of curcumin on dual-species biofilms formed by *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Microbiologyopen*, 8(12), 937.
- Lo, Y. C., Ji, D. D., & Hung, C. C. (2014). Prevalent and incident HIV diagnoses among *Entamoeba histolytica*-infected adult males: a changing epidemiology associated with sexual transmission-Taiwan, 2006-2013. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(10), 3222.
- Luzzago, C., Locatelli, C., Franco, A., Scaccabarozzi, L., Gualdi, V., Viganò, R. & Battisti, A. (2014). Clonal diversity, virulence-associated genes and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates from nasal cavities and soft tissue infections in wild ruminants in Italian Alps. *Veterinary microbiology*, 170(1-2), 157-161.

- MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria* (3rd Edt). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Mamboleo, D. M., Njoroge, S. M. & Okaru, F. N. (2016). The Prevalence of Diarrheal Diseases in Childcare Institutions. Uasin Gishu The Prevalence of Diarrheal Diseases in Childcare Institutions, Uasin Gishu County, Kenya.
- Maroszyńska, M., Kunicka-Styczyńska, A., Rajkowska, K., & Maroszyńska, I. (2013). Antibiotics sensitivity of *Candida* clinical and food-borne isolates. *Acta biochimica polonica*, 60(4), 719-724.
- Martinez-Medina, M. & Garcia-Gil, L. J. (2014). *Escherichia coli* in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive *Escherichia coli* pathogenicity. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 5(3), 213.
- Maurice, N. M., Bedi, B., & Sadikot, R. T. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 58(4), 428-439.
- Melese, B., Paulos, W., Astawesegn, F. H., & Gelgelu, T. B. (2019). Prevalence of diarrheal diseases and associated factors among under-five children in Dale District, Sidama zone, Southern Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC public health*, 19, 1-10.
- Micek, S. T., Kollef, M. H., Torres, A., Chen, C., Rello, J., Chastre, J., & Menon, V. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of pneumonia classification. *Infection control & hospital epidemiology*, 36(10), 1190-1197.
- Milnovich, G. J., & Klieve, A. V. (2011). Manure as a source of zoonotic pathogens. *In Zoonotic pathogens in the food chain*, 59-83.
- MOH (2014) *Kenya Environmental Sanitation and Hygiene Policy*. Draft Report of the First National Sanitation Conference, 1-3 April 2014, KICC Nairobi.
- Mohammed, S., & Tamiru, D. (2014). The Burden of Diarrheal Diseases among Children under Five Years of Age in Arba Minch District, Southern Ethiopia, and Associated Risk Factors: A Cross-Sectional Study. *International scholarly research notices*, 2014(1), 654901.
- Mohammed, S., Tilahun, M., & Tamiru, D. (2013). Morbidity and Associated Factors of Diarrheal Diseases among Under-Five Children in Arba-Minch District, Southern Ethiopia, 2012. *Science Journal of Public Health*, 1, 102-106.
- Mohieldin, M., & Jeegan, B. (2013). Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med.*, 14(1), 29-34.

- Mølbak, K. (2000). The epidemiology of diarrhoeal diseases in early childhood: a review of community studies in Guinea-Bissau. *Dan Med Bull*, *47*(5), 340-358.
- Musa, S. A., Magzoub, M., Alhassan, A. S., & Hammad, N. M. A. (2020). Prevalence of *Candida* spp. isolated from urine samples of pregnant women from Kassala State, Sudan. *American Journal of Microbiological Research*, *8*(3), 79-82.
- Myat, T. W., Thu, H. M., Tate, J. E., Burnett, E., Cates, J. E., Parashar, U. D., & Aung, K. M. (2021). Rotavirus infection among children under five years of age hospitalized with acute gastroenteritis in Myanmar during 2018–2020—multicentre surveillance before rotavirus vaccine introduction. *Vaccine*, *39*(47), 6907-6912.
- Naghavi, M., Abajobir, A. A., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abd-Allah, F., Abera, S. F., & Fischer, F. (2017). Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The lancet*, *390*(10100), 1151-1210.
- Nair, R. R., Vasse, M., Wielgoss, S., Sun, L., Yu, Y. T. N., & Velicer, G. J. (2019). Bacterial predator-prey coevolution accelerates genome evolution and selects on virulence-associated prey defences. *Nature communications*, *10*(1), 4301.
- Naous, A., Naja, Z., Zaatari, N., Kamel, R., & Rajab, M. (2013). Intestinal amebiasis: a concerning cause of acute gastroenteritis among hospitalized lebanese children. *North American journal of medical sciences*, *5*(12), 689-698.
- Nasution, G. S., Suryanto, D., & Kusumawati, R. L. (2018, March). Detection of *mecA* gene from methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates of North Sumatera. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *130*(1), 1-7
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, *11*(1), 142-201.
- Newburg, D. S., Peterson, J. A., Ruiz-Palacios, G. M., Matson, D. O., Morrow, A. L., Shults, J., & Pickering, L. K. (1998). Role of human-milk lactadherin in protectoin against symptomatic rotavirus infection. *The Lancet*, *351*(9110), 1160-1164.
- Ngabo, F., Mvundura, M., Gazley, L., Gatera, M., Rugambwa, C., Kayonga, E., & Atherly, D. (2016). The economic burden attributable to a child's inpatient admission for diarrheal disease in Rwanda. *PLoS One*, *11*(2), 0149805.
- Nimmo, G. R., Bell, J. M., Mitchell, D., Gosbell, I. B., Pearman, J. W., & Turnidge, J. D. (2003). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in Australian teaching hospitals, 1989-1999. *Microbial drug resistance*, *9*(2), 155-160.

- Null, C., Stewart, C. P., Pickering, A. J., Dentz, H. N., Arnold, B. F., Arnold, C. D., & Colford, J. M. (2018). Effects of water quality, sanitation, handwashing, and nutritional interventions on diarrhoea and child growth in rural Kenya: a cluster-randomised controlled trial. *The Lancet Global Health*, 6(3), e316-e329.
- Ochoa, T. J., 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), 852-856.
- Ochoa, T.J., Salazar-Lindo, E., & Cleary, T.G. (2004). Management of Children with Infection-Associated Persistent Diarrhea. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 15, 229-236.
- Osano, B. O., Wang'ombe, J. K., Kamenwa, R. W., & Wamalwa, D. (2011). Cost analysis of care for children admitted to kenyatta national hospital with rotavirus gastroenteritis. *Vaccine*, 29(23), 4019-4024.
- Osman, F., Abdirisq, H., Abdirahman, M., & Sayid, M. (2017). Factors Influencing the Occurrence of Diarrhoea Among Children Under the Age of Five Admitted to Benadir Hospital Mogadishu-Somalia. *African Journal of Health and Medical Sciences (AFJHMS)*, 2(1), 1-10.
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. (2021). Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 1-18.
- Paniagua, G. L., Monroy, E., García-González, O., Alonso, J., Negrete, E., & Vaca, S. (2007). Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 6(17), 1-8.
- Paniker, M. D. (2002). *Textbook of Medical Parasitology* (5th ed.). Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd. New Delhi, India.
- Parashar, U. D., Gibson, C. J., Bresee, J. S., & Glass, R. I. (2006). Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 304-306.
- Parija, S. C., & Khairnar, K. (2005). *Entamoeba moshkovskii* and *Entamoeba dispar*-associated infections in Pondicherry, India. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 23, 292-295.
- Parija, S.C. & Khairnar, K. (2007). A Novel Nested Multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR) Assay for Differential Detection of *Entamoeba histolytica*, *E. Moshkovskii* and *E. Dispar* DNA in Stool Samples. *BMC microbiology*, 7, 1-9.

- Parker, C. M., Kutsogiannis, J., Muscedere, J., Cook, D., Dodek, P., Day, A. G., & Canadian Critical Care Trials Group. (2008). Ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant organisms or *Pseudomonas aeruginosa*: prevalence, incidence, risk factors, and outcomes. *Journal of critical care*, 23(1), 18-26.
- Parry, S., & Salmon, R. (1998). Sporadic STEC O157 infection: Secondary household transmission in wales. *Emerging Infect. Dis.*, 4(4), 657-661.
- Parvez, S. A., & Rahman, D. (2018). Virulence factors of uropathogenic *E. coli*. *Microbiology of Urinary Tract Infections-Microbial Agents and Predisposing Factors*, 7-21.
- Payne, S., Gibson, G., Wynne, A., Hudspith, B., Brostoff, J., & Tuohy, K. (2003). In vitro studies on colonization resistance of the human gut microbiota to *Candida albicans* and the effects of tetracycline and *Lactobacillus plantarum* LPK. *Current issues in intestinal microbiology*, 4(1), 1-8.
- Pinjon, E., Sullivan, D., Salkin, I., Shanley, D., & Coleman, D. (1998). Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*, 36(7), 2093-2095.
- Planquette, B., Timsit, J. F., Misset, B. Y., Schwebel, C., Azoulay, E., Adrie, C., & Bédos, J. P. (2013). *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia predictive factors of treatment failure. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 188(1), 69-76.
- Ponnuvel, K. M., Rajkumar, R., Menon, T., & Sankaranarayanan, V. S. (1996). Role of *Candida* in indirect pathogenesis of antibiotic associated diarrhoea in infants. *Mycopathologia*, 135, 145-147.
- Porco, F. V., & Visconte, E. B. (1995). *Pseudomonas aeruginosa* as a cause of infectious diarrhea successfully treated with oral ciprofloxacin. *Annals of Pharmacotherapy*, 29(11), 1122-1123.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (1996). *Microbiology*. Dubuque, IA: Wm. C. C. Brown.
- Prescott, L. M., J. P. Harley & D. A. Klein. (2005) *Microbiology*. Sixth Edition. New York: McGrawHill.

- Prüss-Ustün, A., Wolf, J., Bartram, J., Clasen, T., Cumming, O., Freeman, M. C., & Johnston, R. (2019). Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: an updated analysis with a focus on low-and middle-income countries. *International journal of hygiene and environmental health*, 222(5), 765-777.
- Raisler, J., Alexander, C., & O'Campo, P. (1999). Breast-feeding and infant illness: a dose-response relationship. *American Journal of Public Health*, 89(1), 25-30.
- Rawat, A., Roy, M., Jyoti, A., Kaushik, S., Verma, K., & Srivastava, V. K. (2021). Cysteine proteases: Battling pathogenic parasitic protozoans with omnipresent enzymes. *Microbiological Research*, 249, 126784.
- Raygada, J. L., & Levine, D. P. (2009). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a growing risk in the hospital and in the community. *American health & drug benefits*, 2(2), 86.
- Reddy, P. N., Srirama, K., & Dirisala, V. R. (2017). An update on clinical burden, diagnostic tools, and therapeutic options of Staphylococcus aureus. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 10, 1179916117703999.
- Remans, K., Vercammen, K., Bodilis, J., & Cornelis, P. (2010). Genome-wide analysis and literature-based survey of lipoproteins in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 156(9), 2597-2607.
- Riddell, S. W., & Sanyal, S. (2019). Essentials of Diagnostic Microbiology: A Problem-Based Approach. *Introduction to Clinical Infectious Diseases*, 439-460.
- Riedel, S., Morse, S.A., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology* (28th ed.). McGraw Hill Education, USA.
- Riquelme, S. A., Liimatta, K., Lung, T. W. F., Fields, B., Ahn, D., Chen, D., & Prince, A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* utilizes host-derived itaconate to redirect its metabolism to promote biofilm formation. *Cell metabolism*, 31(6), 1091-1106.
- Romano, N., Fakhrurrazi, A., Yvonne, A., Jamaiah, I., Rohela, M. (2010). Differentiating *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* using nested polymerase chain reaction (PCR) in rural communities in Malaysia. *Parasites and Vectors*, 5, 187.
- Rosenberg, M. (2007). Global child health: burden of disease, achievements, and future challenges. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 37(9), 338-362.

- Rosenthal, V. D., Al-Abdely, H. M., El-Kholy, A. A., AlKhawaja, S. A. A., Leblebicioglu, H., Mehta, Y., & Roncancio-Vill, G. E. (2016). International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. *American journal of infection control*, 44(12), 1495-1504.
- Sainz-Mejías, M., Jurado-Martín, I., & McClean, S. (2020). Understanding *Pseudomonas aeruginosa*–host interactions: The ongoing quest for an efficacious vaccine. *Cells*, 9(12), 2617.
- Saleha, A., & Zunita, Z. (2010). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): An emerging veterinary and zoonotic pathogen of public health concern and some studies in Malaysia. *Journal Animal Veterinary Advances*, 9(7), 1094-1098.
- Sampedro, I., Parales, R. E., Krell, T., & Hill, J. E. (2015). *Pseudomonas* chemotaxis. *FEMS microbiology reviews*, 39(1), 17-46.
- Shahi, P., Moreau, F., & Chadee, K. (2019). *Entamoeba histolytica* cyclooxygenase-like protein regulates cysteine protease expression and virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 447.
- Shaw, L., Golonka, E., Potempa, J. & Foster, S. J. (2004). The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, 150(1), 217-228.
- Shirley, D. A., Hung, C. C., & Moonah, S. (2019). *Entamoeba histolytica* (amebiasis). In *Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases*, 699-706.
- Slack, A. (2012). Parasitic causes of prolonged diarrhoea in travelers: Diagnosis and management. *Australian Family Physician*, 41(10), 782-786.
- Song, W. S., & Yoon, S. I. (2014). Crystal structure of FliC flagellin from *Pseudomonas aeruginosa* and its implication in TLR5 binding and formation of the flagellar filament. *Biochemical and biophysical research communications*, 444(2), 109-115.
- Sousa, A. M., & Pereira, M. O. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* diversification during infection development in cystic fibrosis lungs-a review. *Pathogens*, 3(3), 680-703.
- Souza Passos, A. S., da Silva Santos, R., dos Santos Andrade, R., Junior, E. R. S., Bomfim, É. S., Ribeiro, L. S., & Amor, A. L. M. (2021). Enteric parasites and socio-epidemiological variables in an academic community. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 50(2), 163-178.

- Stefani, S., Chung, D. R., Lindsay, J. A., Friedrich, A. W., Kearns, A. M., Westh, H., & MacKenzie, F. M. (2012). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International journal of antimicrobial agents*, 39(4), 273-282.
- Steinhoffa, M.C. (2018). Interactions of Diarrhea, Pneumonia, and Malnutrition in Childhood: Recent Evidence from Developing Countries. *Physiology & Behavior*, 176, 139-148.
- Streeter, K., & Katouli, M. (2016). *Pseudomonas aeruginosa*: a review of their pathogenesis and prevalence in clinical settings and the environment. *Infection, Epidemiology and Microbiology*, 2(1), 25-32.
- Stringer, A., Gibson, R., Logan, R., Bowen, J., Yeoh, A., & Keefe, D. (2009). *Chemotherapy-induced diarrhea and changes in the fecal flora of cancer patients*. [http://www.mascc.org/media/20th\\_symposium\\_proceeding/poster/2007Human2.Pdf](http://www.mascc.org/media/20th_symposium_proceeding/poster/2007Human2.Pdf), Erişim Tarihi: 15 Aralık 2024.
- Sudbery, P., Gow, N., & Berman, J. (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*, 12(7), 317-324.
- Swaminathan, B., Barrett, T. J., Hunter, S. B., Tauxe, R. V., & Force, C. P. T. (2001). PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerging infectious diseases*, 7(3), 382.
- Talan, D. A., Krishnadasan, A., Abrahamian, F. M., Stamm, W. E., Moran, G. J., & EMERGENCY ID NET Study Group. (2008). Prevalence and risk factor analysis of trimethoprim-sulfamethoxazole and fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* infection among emergency department patients with pyelonephritis. *Clinical infectious diseases*, 47(9), 1150-1158.
- Tasawar, Z., Kausar, S., & Lashari, M. H. (2010). Prevalence of *Entamoeba histolytica* in humans. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 23, 344-348.
- Tate, J. E., Burton, A. H., Boschi-Pinto, C., Parashar, U. D., WHO, Agocs, M., & Paladin, F. (2016). Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children <5 years of age, 2000–2013. *Clinical Infectious Diseases*, 62(2), 96-105.
- Tengku, S. A., & Norhayati, M. (2011). Public health and clinical importance of amoebiasis in Malaysia: a review. *Tropical Biomedicine*, 28(2), 194-222.
- Tille, P. (2015). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri.

- Troeger, C., Forouzanfar, M., Rao, P. C., Khalil, I., Brown, A., Reiner, R. C., & Mokdad, A. H. (2017). Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet infectious diseases*, 17(9), 909-948.
- Trung, V., Nguyen, T. V., Le Van, P., Le Huy, C., Gia, K. N., & Weintraub, A. (2005). Detection and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. *Journal of clinical microbiology*, 43(2), 755-760.
- Uppal, B., Panda, P. S., Kishor, S., Sharma, S., & Farooqui, F. H. (2016). Speciation of *Candida* isolates obtained from diarrheal stool. *The Egyptian Journal of Internal Medicine*, 28, 66-70.
- Vaishnavi, C., Kaur, S., & Prakash, S. (2008). Speciation of fecal *Candida* isolates in antibiotic-associated diarrhea in non-HIV patients. *Japanese journal of infectious diseases*, 61(1), 1-4.
- Vandepitte, J. (2003). *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology*. World Health Organization. [https://www.google.com/books?hl=tr&lr=&id=UHY0DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Vandepitte,+J.+\(2003\).+Basic+Laboratory+Procedure+in+clinical+Bacteriology&ots=dDaeSyf7xE&sig=m7F0kzhWgqPdsYM6Td20uW20mA](https://www.google.com/books?hl=tr&lr=&id=UHY0DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Vandepitte,+J.+(2003).+Basic+Laboratory+Procedure+in+clinical+Bacteriology&ots=dDaeSyf7xE&sig=m7F0kzhWgqPdsYM6Td20uW20mA). Erişim Tarihi: 15 Aralık 2024.
- Vellanki, S., Huh, E. Y., Saville, S. P., & Lee, S. C. (2019). *Candida albicans* morphology-dependent host FGF-2 response as a potential therapeutic target. *Journal of Fungi*, 5(1), 22.
- Vesikari, T., & Torun, B. (1994). Diarrheal Diseases. *Health and Disease in developing countries*, 136-146.
- Victoria-Hernández, J. A., Ventura-Saucedo, A., López-Morones, A., Martínez-Hernández, S. L., Medina-Rosales, M. N., Muñoz-Ortega, M., & Ventura-Juárez, J. (2020). Case report: multiple and atypical amoebic cerebral abscesses resistant to treatment. *BMC Infectious Diseases*, 20, 1-6.
- Vincent, J. L., Sakr, Y., Singer, M., Martin-Loeches, I., Machado, F. R., Marshall, J. C., & Epic III Investigators. (2020). Prevalence and outcomes of infection among patients in intensive care units in 2017. *Jama*, 323(15), 1478-1487.
- Waldman, R., Fontaine, O., & Richard, L. (2004). *Epidemic dysentery*. A supplement to Dialogue on Diarrhoea. Published by Ahrtag, UK.

- Walsh, J. A. (1986). Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Reviews of infectious diseases*, 8(2), 228-238.
- Wan, C., Phillips, M. R., Dibley, M. J., & Liu, Z. (1999). Randomised trial of different rates of feeding in acute diarrhoea. *Archives of disease in childhood*, 81(6), 487-491.
- Wani, S. A., Bhat, M. A., Samanta, I., Nishikawa, Y., & Buchh, A. S. (2003). Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from calves and lambs with diarrhoea in India. *Letters in Applied microbiology*, 37(2), 121-126.
- Webb, B. C., Thomas, C. J., Willcox, M. D. P., Harty, D. W. S., & Knox, K. W. (1998). *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review: Part1. Factors influencing distribution of candida species in the oral cavity. *Australian dental journal*, 43(1), 45-50.
- Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infection control & hospital epidemiology*, 37(11), 1288-1301.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- WHO. (2008). *Making every mother and child count*. World Health Report, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- WHO. (2013). *Diarrhoeal disease*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en>. Erişim Tarihi: 15 Aralık 2024.
- WHO. (2016). *Children: reducing mortality*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs178/en>. Erişim Tarihi: 15 Aralık 2024.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *JAN*, 3(2), 163-175.
- Wistreich, G. A. (1997). Microbiology laboratory. *Fundamentals and applications*, 2, 139-256.

- Wunderink, R. G., & Waterer, G. (2017). Advances in the causes and management of community acquired pneumonia in adults. *Bmj*, 358.
- Wyrsh, E. R., Chowdhury, P. R., Jarocki, V. M., Brandis, K. J., & Djordjevic, S. P. (2020). Duplication and diversification of a unique chromosomal virulence island hosting the subtilase cytotoxin in *Escherichia coli* ST58. *Microbial genomics*, 6(6), 387.
- Ximénez, C., Cerritos, R., Rojas, L., Dolabella, S., Morán, P., Shibayama, M., & Silva, E. F. (2010). Human amebiasis: breaking the paradigm? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(3), 1105-1120.
- Ximénez, C., Morán, P., Rojas, L., Valadez, A., & Gómez, A. (2009). Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6), 1023-1032.
- Ximénez, C., Morán, P., Rojas, L., Valadez, A., Gómez, A., Ramiro, M., & Oswaldo, P. (2011). Novelties on amoebiasis: a neglected tropical disease. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(2), 166-174.
- Yang, X., Guo, Y., Xiao, L., & Feng, Y. (2021). Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis in low-and middle-income countries. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), 1010-1128.
- Yaya, S., Hudani, A., Udenigwe, O., Shah, V., Ekholuenetale, M. & Bishwajit, G. (2018). Improving water, sanitation and hygiene practices, and housing quality to prevent diarrhea among under-five children in Nigeria. *Tropical medicine and infectious disease*, 3(2), 41.
- You, D., Jones, G., Hill, K., Wardlaw, T., & Chopra, M. (2015). Levels and trends in child mortality, 1990–2009. *The Lancet*, 376(9745), 931-933.
- Zhang, S., Abbas, M., Rehman, M. U., Huang, Y., Zhou, R., Gong, S., & Cheng, A. (2020). Dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs) via integrons in *Escherichia coli*: a risk to human health. *Environmental Pollution*, 266, 115260.

## ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı:	Hasan Shareef Almusawi
Uyruğu:	Irak
Orcid Numarası:	0009-0005-8020-041X

EĞİTİM BİLGİLERİ	
<b>Lisans</b>	
Üniversite:	Thi-Qar Üniversitesi
Fakülte:	Patolojik Analizler
Bölümü:	Patolojik Analizler
Mezuniyet Yılı:	2018
<b>Yüksek Lisans</b>	
Üniversite:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü:	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı:	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Mezuniyet Yılı:	-
<b>Doktora</b>	
Üniversite:	-
Enstitü:	-
Anabilim Dalı:	-
Mezuniyet Yılı:	-

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler
<p><u>Almusawı, H., &amp; Selçuk, F. (2024). Irak Dhi-Qar İlindeki Bebeklerde İshal Enfeksiyonlarının Patojenlerinin Belirlenmesi. <i>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi</i>, 2(2), 39-46.</u></p>