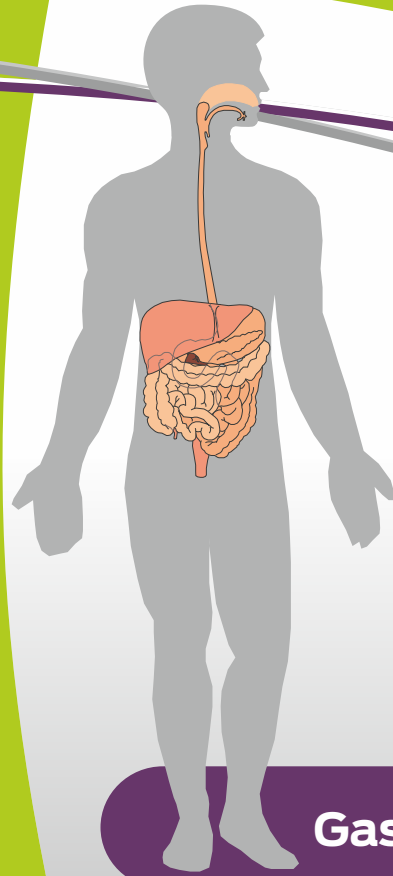


Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin

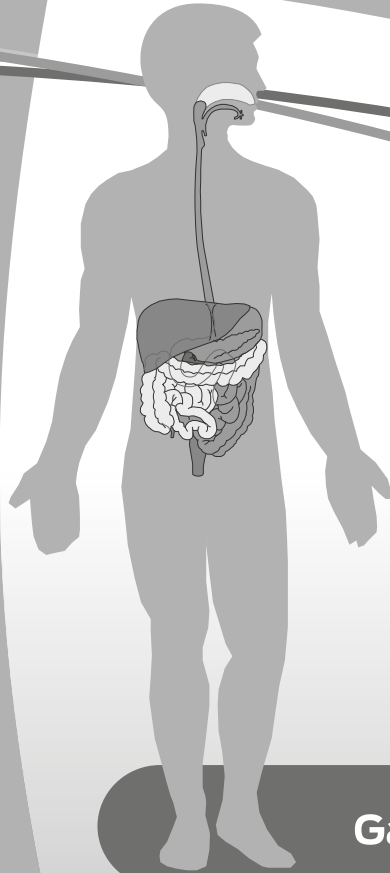
KLİNİK ÖRNEKTEN SONUÇ RAPORUNA UYGULAMA REHBERİ



Gastrointestinal Sistem Örnekleri

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin

KLİNİK ÖRNEKTEN SONUÇ RAPORUNA UYGULAMA REHBERİ



Gastrointestinal Sistem Örnekleri

Bu rehber Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlığı Derneği (KLİMUD) tarafından hazırlatılmış olup rehberin her türlü yayın, basım ve dağıtım hakkı KLİMUD’a aittir. KLİMUD’un yazılı izni olmadan rehberin tümü ya da bir bölümü herhangi bir ortamda yayınlanamaz ve/veya çoğaltılamaz. Ancak kaynak gösterilerek kısa alıntılar yapılabilir. Rehber ilgili kişi ve kurum/kuruluş için hazırlanmış olup ücretsizdir ve para ile satılamaz.

Kasım 2017, Ankara

ISBN: 978-605-84108-6-2

Basım yeri: Çağhan Ofset Matbaacılık Ltd. şti. Tel: 0312 397 71 83 Ankara

KLİMUD Kaynak No: 12

KLİMUD- RHKK ÜYELERİ

Mehmet Baysallar
Selda Erensoy
Berrin Esen
Duygu Fındık
Pınar Zarakolu Köşker
Belkıs Levent
Cüneyt Özakin
Serap Süzük
Burçin Şener
Ayşın Zeytinoglu

Gastrointestinal Sistem Örnekleri Alt Çalışma Grubu Üyeleri

Başkan

Belkıs Levent

Yazıcı Üyeler

Banu Sancak
Gülay Aral Akarsu
Candan Üstün
Fügen Yarkin
Betil Özhak Baysan
Şöhret Aydemir

Klinisyen Üyeler

Şebnem Eren
Gönül Tanır

Uygulayıcı Üyeler

Demet Furkan Sevindi
Nazlı Gürkan

Okuyucu Üyeler

Gülşen Hasçelik
Gülendam Bozdayı
Berrin Esen

Rehber Değerlendirme Grubu

Hakan Abacıoglu
Ali Adiloğlu
Selda Erensoy
Betigül Öngen

İÇİNDEKİLER

I. Sunuş	vii
II. Bu Rehberi Nasıl Kullanacaksınız?	viii
III. Kısaltmalar	ix
IV. Anahtar Kelimeler	xi
V. Biyogüvenlik Uygulamaları	xii
1. Giriş	1
2. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM FLORASI	2
3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN ETKENLER İLE TANILARINDA İNCELENECEK KLİNİK ÖRNEKLER	3
4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ENFEKSİYONLARINDA ÖRNEK TÜRLERİ, ÖRNEKLERİN ALINMASI, TAŞINMASI, SAKLANMASI	7
5. DIŞKI ÖRNEKLERİ İÇİN RET ÖLÇÜTLERİ	14
6. GİS ENFEKSİYONLARINDA TANIDA ÖNERİLEN MİKROBİYOLOJİK İŞLEMLER	15
6.1. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örnekleri	15
6.1.1. Akut Gastroenterit Olgularında Sendromik Yaklaşım	15
6.1.2. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örneklerinin Bakteriyel Etkenler Açısından İncelenmesi	18
6.1.2.1. Dışkı örneklerinin makroskopik/mikroskopik değerlendirilmesi	18
6.1.2.2. Dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin kültür yöntemi ile izolasyon ve identifikasyonu	19
6.1.2.3. Bakteriyolojik inceleme sonuçlarının raporlanması	28
6.1.3. Dışkı Örneklerinin Paraziter Etkenler Açısından İncelenmesi	30
6.1.3.1. Dışkı örneklerinin parazitolojik etkenler açısından işlenmesi	30
6.1.3.2. Dışkı örneklerinin makroskopik/mikroskopik değerlendirilmesi	33
6.1.3.3. Dışkıda antijen tespiti	37
6.1.3.4. Parazitolojik inceleme sonuçlarının raporlanması	37
6.1.4. Dışkı Örneklerinin Viral Etkenler Açısından İncelenmesi	39
6.1.4.1. Dışkı örneklerinin viral etkenler açısından incelenmesinde kullanılan yöntemler	40
6.1.4.2. Viral inceleme sonuçlarının raporlanması	43
6.1.5. Dışkı Örneklerinde Çoklu Patojen Saptayan Kombine Moleküler Testler	44
6.2. Gastrik Biyopsi Örnekleri	47
6.2.1. Gastrik biyopsi örneklerinin <i>Helicobacter pylori</i> açısından incelenmesi	47
6.2.1.1. Invazif testler	48
6.2.1.2. Invazif olmayan testler	49
6.2.1.3. Moleküler tanı testleri	50
6.2.2. Gastrik biyopsi sonuçlarının raporlanması	50
6.3. Safra Örnekleri	51
6.3.1. Mikroskopik inceleme	52
6.3.2. Kültür	52
6.3.3. Sonuçların raporlanması	52
7. BİLDİRİMİ ZORUNLU GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ETKENLERİ	53
8. KAYNAKLAR	55

I. SUNUŞ

Enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede klinik mikrobiyoloji laboratuvarları kilit rol oynamaktadır. Mikroorganizmaların küresel yayılımının kolaylaşması, yeni tanımlanan ve/veya yeniden önem kazanan hastalık etkenleri, antimikrobiyal ilaç direncindeki hızlı artış, değişen hasta profili ve sık karşılaşılmayan fırsatçı enfeksiyonlar, mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulamaya yeni giren ileri tanı yöntemleri “Tanısal (Klinik) Mikrobiyoloji” laboratuvarlarının önemini giderek arttırmaktadır.

Tıbbi (Klinik) Mikrobiyoloji uzmanının sorumluluğu kapsamında; insanda mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların tanısı, ayırıcı tanısı, önlenmesi, tedavisinin yönlendirilmesi ve izlenmesi, antimikrobiyal ilaç direncinin izlenmesi amacıyla hastaya ait tüm biyolojik örneklerin incelenmesi, mikrobiyolojik, immünolojik ve moleküler testlerin seçimi, testlerin yapılması, sonuçların yorumlanması ve tıbbi konsültasyon yer almaktadır. Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarının rolü, klinisyenin bir enfeksiyon hastalığından şüphelenmesinden başlayıp o enfeksiyon ortadan kalkıncaya kadar devam etmektedir. Bu nedenle, mikrobiyoloji uzmanlığı prepreanalitik, preanalitik, analitik, postanalitik ve postpostanalitik süreçlerde kritik rol oynamaktadır. Tüm bu süreçte tıbbi mikrobiyoloji uzmanının; doğru ve hızlı sonuç verebilecek, hasta güvenliğini ön planda tutarak sağlık hizmeti kalitesini artıracak ve maliyet etkin uygulamaları gözütecek bir yaklaşıma sahip olması gerekmektedir.

Ulusal ve uluslararası rehberler bu süreçlerde mikrobiyoloji uzmanına kaynak oluşturmanın yanısıra, klinisyen/mikrobiyolog işbirliğinin güçlendirilmesini de desteklemektedir. KLİMUD ulusal rehberlerin hazırlanması ve kullanılmasını son derecede önemsemekte ve bu alanda üyelerine kaynak sağlamayı öncelikli hedefleri arasında bulundurmaktadır.

KLİMUD tarafından 2015 yılında üyelerinin kullanımına sunulan “Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberleri”ne yeni fasiküller eklenmekte olup elinizdeki rehber bu çalışmanın devamı niteliğindedir. Bu rehber de yine yoğun bir emek ve ekip çalışması ile hazırlanmıştır.

“Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberleri”nin hazırlanmasında, tıbbi mikrobiyoloji uzmanlarının uygulamalarında standart bir yaklaşımın oluşturulmasına katkı sağlaması ve etkinliği kanıtlanmamış ya da etkisiz ve yanlış uygulamaların önlenmesi hedeflenmektedir. Bu nedenle, test isteminden sonucun raporlandırılmasına kadar geçen tüm aşamalar için kanıta dayalı yaklaşımlara da yer verilmektedir.

KLİMUD rehberlerinin, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) tarafından yürütülen Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) çalışması kapsamında hazırlanan rehberler ile birlikte alandaki önemli bir ihtiyaca karşılık geldiğini düşünüyoruz.

Hedef kitlesi birinci, ikinci ve üçüncü basamak sağlık kurum ve kuruluşlarında hizmet veren tüm tıbbi mikrobiyoloji uzmanları ile uzmanlık öğrencileri olan rehberlerimizin laboratuvarlarımızda yaygın bir şekilde kullanılması en büyük arzumuzdur. Rehberlerimizin her zaman birlikte daha iyiyi bulma ilkesi ile geliştirilerek güncelleneceğini de bilgilerinize sunar, rehberin hazırlanmasında emeği geçen ve katkı veren tüm üyelerimize ve UMS’nin tamamlayıcı bir unsuru olarak hazırlanmasına olanak sağlayan THSK yetkililerine sonsuz teşekkür ve şükranlarımızı sunarız.

KLİMUD Yönetim Kurulu
Kasım, 2017

II. BU REHBERİ NASIL KULLANACAKSINIZ?

“Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberleri” nin mikrobiyoloji uzmanlarımıza, örneğin alınışından raporlanma aşamasına kadarki tüm süreçlerin yönetilmesinde yardımcı bir kaynak olması amaçlanmaktadır. Bu amaçla rehberin ilk bölümünde genel olarak örneğin alındığı sistem, sık karşılaşılan enfeksiyonları ve bu enfeksiyonların etkenleri ile ilgili çok özet bir bilgilendirme yapılmaktadır. Bu bölümün ardından; her sistemin ilgili örneğinin alınması, taşınması, saklanması, işlenmesi ve raporlandırılması süreçleri okuyucuyu yormadan kolayca bilgiye ulaşmasının hedeflendiği tablolar ve iş akış şemaları kullanılarak özetlenmektedir. Tablo ve iş akış şemaları arasında yer alan **“bilgi not”**ları konu ile ilgili olarak bilinmesi gereken en önemli noktalara, **“uyarı”** kutucukları ise özellikle uygulamada dikkatli olunması gereken süreçlere vurgu yapmakta olup bu amaçla tüm rehberde aşağıda yer alan simgeler kullanılmaktadır. Rehberin en başında yer alan **“biyogüvenlik uygulamaları”** sadece hatırlatıcı olup konuya özgü rehberlerde yer alan tüm önlemlerin özenle uygulanmasına dikkat çekilmektedir.

Rehber boyunca kullanılan simgeler ve anlamları aşağıda gösterilmektedir.



Bilgi simgesi

İlgili örnek ve/veya enfeksiyon hakkında mutlaka bilinmesi gereken bilgi



Uyarı-dikkat çekme simgesi

Önemli mesajlar/uygulamalar



Raporlama simgesi

İlgili örneğin raporlanmasında kullanılan farklı şablonlar

III. KISALTMALAR

AFB	: Aside dirençli (Ziehl Neelsen) boyama	Acid fast bacteria (Ziehl Neelsen) stain
AIDS	: Edinilmiş bağışıklık eksikliği sendromu	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AMDT	: Antimikrobiyal duyarlılık testi	Antimicrobial susceptibility testing
BGD	: Biyogüvenlik düzeyi	Biosafety level
BGK	: Biyogüvenlik kabini	Biological safety cabinet
CCDA	: Kömürlü sefoperazon deoksikolat agar	Charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar
CDI	: <i>Clostridium difficile</i> 'ye bağlı enfeksiyon	<i>Clostridium difficile</i> infection
CIN	: Sefsulodin-ırgasan-novobiycin	Cefsulodin-irgasan-novobiocin
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMV	: Sitomegalovirüs	Citomegalovirus
CT-SMAC	: Sefaksim tellüritli SMAC	SMAC containing cefixime and tellurite
DFA	: Direkt floresan antikor	Direct fluorescent antibody
DNA	: Deoksiribonükleik asit	Deoxyribonucleic acid
EAEC	: Enteroagregatif <i>E. coli</i>	Enterocoaggregative <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvazif <i>E. coli</i>	Enteroinvasive <i>E. coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>	Enteropathogenic <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	Enterotoxigenic <i>E. coli</i>
EBV	: Ebstein-Barr virüsü	Ebstein-Barr virus
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>
ELISA	: Enzim bağlı immunosorbent assay	Enzyme linked immunosorbent assay
EMB	: Eozin metilen mavisi	Eosin Methylene-blue
EUCAST	: Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi	U.S. Food and Drug Administration
FFP	: Partikül filtreli respiratör	Filtering facepiece
GDH	: Glutamat dehidrogenaz	Glutamate dehydrogenase
GE	: Gastroenterit	Gastroenteritis
Gİ	: Gastrointestinal	Gastrointestinal
GİS	: Gastrointestinal sistem	Gastrointestinal system
g	: gram	gram
HAV	: Hepatit A virüsü	Hepatitis A virus
HBV	: Hepatit B virüsü	Hepatitis B virus
HCV	: Hepatit C virüsü	Hepatitis C virus
HDV	: Hepatit D virüsü	Hepatitis D virus

HE	: Hektoen enterik	Hektoen enteric
HEV	: Hepatit E virüsü	Hepatitis E virus
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü	Human immunodeficiency virus
HPV	: İnsan papilloma virüsü	Human papillomavirus
HSV	: Herpes simpleks virüsü	Herpes simplex virus
HÜS	: Hemolitik üremik sendrom	Hemolytic uremic syndrome
KKD	: Kişisel koruyucu donanım	Personel protective equipment
MAC	: MacConkey agar	MacConkey agar
MIF	: Mertiyolet-iyodin-formaldehid	Merthiolate-iodine-formaldehyde
kob	: Koloni oluşturan birim	Colony forming unit
mL	: mililitre	mililiter
NAAT	: Nükleik asit amplifikasyon testleri	Nucleic acid amplification tests
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi	Polyacrilamidy Gel Electrophoresis
PBS	: Fosfatlanmış tamponlu tuzlu su	Phosphate-buffered saline
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu	Polymerase chain reaction
PNL	: Polimorfonükleer lökosit	Polymorphonuclear leukocyte
PVA	: Polivinil alkol	Polyvinyl alcohol
RNA	: Ribonükleik asit	Ribonucleic acid
RT- PCR	: Ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SAF	: Sodyum asetat formalin	Sodium Acetate Formalin
SF	: Serum fizyolojik	Physiological serum/ Physiological saline
SMAC	: Sorbitol MacConkey agar	Sorbitol MacConkey
SS	: Salmonella Shigella	Salmonella Shigella
STEC	: Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>	Shiga toxin-producing <i>E. coli</i>
TCBS	: Tiyosülfat sitrat safra tuzlu şükroz	Thiosulfate citrate bile salts sucrose
TDM	: Tüberküloz dışı mikobakteri	Nontuberculosis <i>Mycobacteria</i>
UMS	: Ulusal Mikrobiyoloji Standartları	National Microbiology Standards
VRE	: Vankomisin dirençli enterokok	Vancomycin-resistant enterococci
VTEC	: Verotoksijenik <i>Escherichia coli</i>	Verotoxin producing <i>Escherichia coli</i>
XLD	: Ksiloz lizin deoksikolat	Xylose Lysine Deoxycholate

IV. ANAHTAR KELİMELER

Antimikrobiyal duyarlılık	Antimicrobial susceptibility
Bakteri	Bacteria
Bildirim	Notification
Dışkı	Feces
Gastrik biyopsi	Gastric biopsy
Gastroenterit	Gastroenteritis
Gastrointestinal sistem	Gastrointestinal tract
İshal	Diarrhea
Kültür	Culture
Örnek	Sample
Parazit	Parasites
Safra	Bile
Patojen	Pathogen
Rapor	Report
Rektal sürüntü	Rectal swab
Virüs	Virus
Yöntem	Method

V. BİYOGÜVENLİK UYGULAMALARI

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında klinik örneklerin ve izolatların işlenmesi sırasında mutlaka iyi laboratuvar uygulamalarına dikkat edilir. Başta aerosol oluşturan işlemler olmak kaydıyla tüm işlemler sırasında asgari **Biyogüvenlik düzey (BGD) II önlemleri** alınır.

Fiziksel önlemler

- Laboratuvarlara giriş/çıkışlar sınırlandırılır.
- Laboratuvarların girişinde biyogüvenlik işareti bulunur.
- Laboratuvarlar ile ofis alanları birbirinden ayrılır.

İyi/Güvenli laboratuvar uygulamaları

- Laboratuvarda çalışılırken mutlaka uygun kişisel koruyucu donanım (KKD) giyilir ve laboratuvar alanı terk edilmeden önce çıkarılır.
- Aerosol oluşturan tüm işlemler Sınıf II Biyolojik güvenlik kabininde yapılır.
- Enfeksiyöz atıklar usulüne uygun bir şekilde bertaraf edilir ve buna ilişkin kayıtlar tutulur.
- Çalışma alanları ve cihazlar usulüne uygun bir şekilde temizlenir, düzenli bakım, kontrol ve kalibrasyonları yapılır.
- Laboratuvar kazalarına ilişkin prosedürlerin varlığı ve kayıtlarının tutulduğu kontrol edilir.
- Çalışan sağlığına yönelik prosedürlerin varlığı ve kayıtlarının tutulduğu kontrol edilir.

Yüksek riskli patojenlerle çalışma

Verotoksijenik *Escherichia coli* veya *Vibrio cholerae* gibi toksin üreten bakterilerle ve tifo-paratifo etkenleri ile çalışırken **BGD II önlemlerine ek olarak** aşağıdaki önlemler de alınır.

- Çalışma alanının girişi; çift kapılı, kendiliğinden kapanan bir kapı sistemi ile sınırlandırılır.
- Laboratuvar alanında tek yönlü hava akımı sağlanır, aynı anda hava girişi ve çıkışının olmamasına dikkat edilir.
- Bu alanda, normal laboratuvar alanlarında giyilenden ayrı bir KKD kullanılır, ek olarak partikül filtreli respiratör (FFP2 düzeyinde) maske kullanılır. KKD bütün işlemler sırasında giyilir.
- Bütün atıklar dekontamine edilir.
- Bu etkenlerle çalışılırken, BGD II önlemlerine ek olarak BGD III düzeyi uygulamalar gerçekleştirilir. Bu uygulamalar arasında önü kapalı ve kolları manşetli önlük, çift eldiven, ve respiratör kullanımı sayılabilir (detaylı bilgi için bkz. UMS Laboratuvar Güvenliği Rehberi).



Her türlü klinik örnek “enfeksiyöz” kabul edilmeli ve bu örnekler alınırken, taşınırken ve çalışılırken standart güvenlik önlemleri alınmalı, mutlaka uygun KKD kullanılmalı ve işlem sonrasında tüm malzemeler dekontamine edilmelidir.

Güvenlik önlemleri arasında; kimyasal ve fiksatiflerin etiketlenmesi, örneklerin incelenmesi için uygun alanların ayrılması, santrifüj işleminin uygun tüplerde yapılması, tıbbi atıkların uygun bir biçimde uzaklaştırılması, çalışma alanlarında birşey yiyilip içilmemesi (sigara dahil) ve işlemlerin iyi ve tekniğine uygun şekilde yapılması sayılabilir.

1. GİRİŞ

Bu rehber gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının laboratuvar tanısına yönelik olarak geliştirilmiş olup, mikrobiyoloji uzmanlarının gastrointestinal sistem örneklerine yönelik rutin laboratuvar çalışmalarında kullanmaları amacıyla hazırlanmıştır.

Gastrointestinal (Gi) enfeksiyonlar, değişik etkenlere bağlı olarak çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır. Bağırsakta yerleşen patojen etkenlere bağlı gelişen ishaller, özellikle çocuk ve yaşlılarda morbidite ve mortalitenin başta gelen nedenlerinden biridir. Bu enfeksiyonların birçoğunda özellikle inflamatuvar olmayan ishal ve kısa süreli akut gastroenteritlerde laboratuvar testlerine her zaman ihtiyaç duyulmamaktadır. Bu etkenler enterotoksin veya yapışma/yüzeyel invazyon ile inflamatuvar olmayan ve/veya sitotoksik etki ile inflamatuvar ishalleri yol açmaktadır.

Gastrointestinal hastalıklarda uygun tanısal yaklaşıma; hastanın yaşı, hastalığın şiddeti, süresi ve tipi, yılın hangi zamanında ve hangi bölgede görüldüğü gibi faktörlere bağlı olarak karar verilmektedir. Özellikle şiddetli, inatçı, kanlı, dizanterik, ateşle beraber seyreden veya nozokomiyal diyarede dışkının enfeksiyöz etkenler yönünden incelenmesi gerekmektedir.

Bir klinik laboratuvarında doğru test sonuçlarının alınması için; klinik örneğin laboratuvarında çalışılmasına kadar (preanalitik), laboratuvar çalışması sırasında (analitik) ve klinisyene hasta ile ilgili laboratuvar sonuçlarının iletilmesi (postanalitik) aşamalarında yapılması gerekenler bulunmaktadır. Bu rehberde gastrointestinal sistem enfeksiyon etkenlerinin tanısında kullanılacak testlerin seçimi, örnek alma, örneğin işlenmesi, test sonuçlarının yorumlanması ve raporlandırılması konularında bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

2. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM FLORASI

Gastrointestinal sistem (GİS) özofagus, mide, ince bağırsak, kolon, rektum ve anüs gibi farklı anatomik bölgelerden oluşmakta olup, bu bölgelerin her biri farklı çeşit ve sayıda mikroorganizmalarla kolonize olmuştur. Flora; mide ve üst bağırsakta az, alt bağırsakta çok miktarda bulunur. Özofagus orofarinksten yutkunarak veya mideden reflü yoluyla gelen bakteriler tarafından kolonize olur. Sağlıklı bireylerin bağırsaklarında aerop ve anaerop gram pozitif mikroorganizmalar hakimdir. Kolon florası, 800'ün üzerinde bakteri cinsini içeren karmaşık bir ekosistemdir ve her bir gramında 10^{11} - 10^{12} bakteri ile kolonize olmuştur. Anaeroplara, fakültatif anaeroplardan çok daha fazla miktardadır. Bakteriler hem lümende, hem de mukozaya yapışmış olarak bulunur, ancak bağırsak duvarına penetre olmazlar. Bakteriler kuru dışkı kütlelerinin %60'ını oluştururlar. Bağırsak florasında ayrıca mantar, virüs ve arkeler de mevcut olup, aktiviteleri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Tablo 2.1'de gastrointestinal sistem florası üyelerinin bölgelere göre dağılımı özetlenmektedir.

Tablo 2.1. Gastrointestinal sistem florası üyelerinin bölgelere göre dağılımı

Bölge	Flora Üyeleri
Özofagus	<i>Firmicutes</i> <i>Bacteroidetes</i> <i>Actinobacteria</i> <i>Proteobacteria</i> <i>Fusobacteria</i> TM7
Mide	<i>Helicobacter pylori</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Enterobacteriaceae</i>
İnce bağırsak	<i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Bacteriodes</i> Diğer gram-pozitif aeroplara <i>Clostridium</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Enterobacteriaceae</i> Fakültatif anaeroblara
Kolon	<i>Bacteroidetes</i> <i>Firmicutes</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Clostridium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Enterococci</i> <i>Streptococci</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> Koagülaz negatif stafilokoklar <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Actinomyces</i>

3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN ETKENLER İLE TANILARINDA İNCELENECEK KLİNİK ÖRNEKLER

Gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olan etkenler ile bunların tanısında incelenecek klinik örnekler Tablo 3.1'de özetlenmektedir.

Tablo 3.1. GİS enfeksiyonlarında klinik örnek türleri ve olası etkenler

Enfeksiyon hastalığının adı	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Parazit ¹	Mantar
Özofajit	Özofagiyal fırçalama ² Biyopsi	Gram pozitif koklar Gram negatif basiller	CMV EBV HSV Varicella zoster		<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> türleri "Esmer" funguslar <i>Pneumocystis jiroveci</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatidis</i>
Gastrit/ Gastrik ülser/ Duodenal ülser	Biyopsi Dışkı Nefes ³	<i>Helicobacter pylori</i>			
Gastroenterit	Dışkı Rektal sürüntü Kusmuk Serum Kan kültürü ⁴ Anal bant örneği Biyopsi Duodenal/ jejunal aspirat Parazit erişkini veya segmentleri Sigmoidoskopi materyali	<i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Campylobacter</i> spp. <i>Escherichia coli</i> - ETEC - EPEC - EIEC - EHEC - EAEC - Enteroadesiv <i>E. coli</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Aeromonas</i> spp. <i>Edwardsiella tarda</i>	Rotavirus Calicivirus (Norovirus, Sapovirus) Adenovirus (enterik) Astrovirus Togavirus Picobirnavirus Sitomegalovirus (immün baskılanmış hastalarda)	<i>Entamoeba histolytica</i> (<i>Entamoeba dispar</i> *, <i>Entamoeba coli</i> *, <i>Entamoeba hartmanni</i> *, <i>Endolimax nana</i> *, <i>Iodamoeba bütschlii</i> *) <i>Blastocystis</i> spp. <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Giardia intestinalis</i> (<i>Chilomastix mesnili</i> *, <i>Pentatrichomonas hominis</i> *) <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Cyclospora cayentanensis</i> <i>Isospora belli</i> <i>Balantidium coli</i> ** <i>Enterocytozoon bienersi</i> <i>Encephalitozoon</i> spp. <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Enterobius vermicularis</i> <i>Ancylostoma duodenale</i> <i>Necator americanus</i> ** <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Trichuris trichiura</i> <i>Hymenolepis nana</i> <i>Hymenolepis diminuta</i> ** <i>Taenia saginata</i> <i>Taenia solium</i> <i>Diphyllobothrium latum</i> ** <i>Fasciolopsis buski</i> ** <i>Metagonimus yokogawai</i> ** <i>Heterophyes heterophyes</i> **	

Tablo 3.1. GİS enfeksiyonlarında klinik örnek türleri ve olası etkenler (devam)

Enfeksiyon hastalığının adı	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Parazit ¹	Mantar
Taşıyıcılık	Dışkı Rektal sürüntü Duodenal aspirasyon	<i>Salmonella</i> spp. (bkz. Bilgi notu) VRE (hastanede yatan hastalar için) (bkz. Bilgi notu)	CMV EBV HSV Varicella zoster		<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> türleri "Esmer" funguslar <i>Pneumocystis jiroveci</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatidis</i>
İntraabdominal enfeksiyonlar					
Peritonit	Periton sıvısı Kan kültürü ⁴ Aspirasyon örneği	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Serratia</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Veillonella</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>			<i>Candida</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Fusarium</i> <i>Malassezia</i> <i>Penicillium</i> <i>Pneumocystis</i> <i>Trichosporon</i>
Karaciğer lezyonları (apse, kist, granülom)	Aspirasyon örneği Direnaj sıvısı Serum Biyopsi Kan kültürü ⁴	<i>Streptococcus</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Mycobacterium</i> spp. <i>Brucella</i> spp. <i>Francisella tularensis</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Chlamidia trachomatis</i>	Hepatit virüsleri (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV) CMV EBV	<i>Echinococcus</i> spp. <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Leishmania</i> spp. <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Microsporidia</i> spp.	<i>Candida</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Fusarium</i> <i>Malassezia</i> <i>Penicillium</i> <i>Pneumocystis jiroveci</i> <i>Trichosporon</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Exophiala (Wangiella) dermatitidis</i>
Safra kesesi ve yollarının enfeksiyonları	Safra tubajı Aspirasyon örneği Serum Kan kültürü ⁴ Dışkı	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Salmonella Typhi</i> <i>Bacteroides</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		<i>Fasciola hepatica</i> <i>Dicrocoelium dendriticum</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Clonorchis sinensis</i> **	

Tablo 3.1. GİS enfeksiyonlarında klinik örnek türleri ve olası etkenler (devam)

Enfeksiyon hastalığının adı	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Parazit ¹	Mantar
Dalak enfeksiyonları	Aspirasyon örneği Biyopsi ⁵ Serum Kan kültürü ⁴	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Salmonella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	EBV	<i>Echinococcus</i> spp. <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Leishmania</i> spp.	<i>Candida</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Fusarium</i> <i>Malassezia</i> <i>Penicillium</i> <i>Pneumocystis</i> <i>Trichosporon</i>
İntraabdominal apseler	Aspirasyon örneği Drenaj sıvısı İntraabdominal lenf nodu biyopsisi	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Veillonella</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp. <i>Yersinia</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp.			<i>Candida</i> <i>Rhodotorula</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Fusarium</i> <i>Malassezia</i> <i>Penicillium</i> <i>Pneumocystis</i> <i>Trichosporon</i> <i>Exophiala (Wangiella) dermatitidis</i>
Apandisit Divertikülit	Drenaj sıvısı Biyopsi	<i>Yersinia</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Eubacterium</i> spp. <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus</i> spp.		<i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Enterobius vermicularis</i>	<i>Candida</i> <i>Malassezia restricta</i>
Pankreas enfeksiyonları	Biyopsi Aspirasyon örneği Kan kültürü ⁴	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Haemophilus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Serratia marcescens</i>			
Proktit	Rektal sürüntü Serum	<i>Neisseria gonorrhea</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Treponema pallidum</i>	HSV HPV		

¹ Patojen olarak kabul edilmeyen, ancak raporlanması gereken parazitler "*" ile, Türkiye'de bulunmayan parazitler "***" ile işaretlenmiştir.

² Mikrobiyolojik tanı genellikle fırçalama yöntemiyle alınan özofagus sürüntü örneklerinin Gram ve kalkoflor-KOH boyaları ile boyanması, histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve viral kültürlerin yapılması sonucunda konulur.

³ Nefes: Üre nefes testi için C13 (mikrobiyoloji laboratuvarında) veya C14 (nükleer tıp) ile yapılır

⁴ Ateş varlığında klinik örnekle birlikte kan kültürü de alınmalıdır (bkz. KLİMUD Kan Dolaşımı Örnekleri Rehberi).

⁵ Biyopsi dalak enfeksiyonlarında çok riskli olup, uzman hekim denetiminde alınmalı, sadece özel durumlarda tercih edilmelidir.



Bir salgın veya salgın şüphesi durumunda etkenin tanımlanması salgının kontrolü ve alınacak önlemler açısından yol gösterici olacaktır. Salgınla ilişkili vakalara ait örnekler İl Sağlık Müdürlüğü kanalıyla gönderilmelidir. Yine salgınlar sırasında kuşkulu su ve gıda örnekleri İl Sağlık Müdürlüğü tarafından alınmalı ve ilgili laboratuvarlara gönderilmelidir. Bu nedenle salgınlar sırasında mutlaka İl Sağlık Müdürlüğü ile bağlantı kurulmalıdır! (bkz Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi)

S. aureus, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus* kontamine gıdalarla alınan toksinleri ile hastalık oluştururlar ve invazyon yapmazlar. Tanı klinik bulgulara ve artan gıda örneklerinde bakterilerin veya toksinlerin saptanması ile konur.

Akut toksik gıda zehirlenmelerinde bakteriyel ajan kusmuk örneğinden izole edilebilir.

Gıda zehirlenmelerinde dışkı ve kusmuğun yanısıra gıdalar ya da gıdanın hazırlandığı bulaşık mutfak kaplarından etken araştırması yapılmak üzere, örnekler referans laboratuvarlara gönderilmelidir!

4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ENFEKSİYONLARINDA ÖRNEK TÜRLERİ, ÖRNEKLERİN ALINMASI, TAŞINMASI, SAKLANMASI

Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması ile ilgili bilgiler Tablo 4.1’de özetlenmektedir (Dışkı örneklerinin ret ölçütleri için bkz. Bölüm 5).

Tablo 4.1. Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması

Örnek Türü	Etken	Alım özelliği	Örnek alma zamanı	Taşıma koşulları	Saklama koşulları
Dışkı	Bakteriyel etkenler	Kap: Geniş ağızlı, vidalı kapaklı, plastik, sızdırmaz, temiz olmalı Cary-Blair taşıma besiyeri: Kültür ve bazı NAAT testleri için Miktar: Rutin kültür için 2-4 g, toksine bağlı gıda zehirlenmelerinde 10 g dışkı veya 10-20 mL sıvı dışkı örneği (Dışkı idrar ve su ile karışmamış olmalı, tuvalet kağıdı üzerine alınmamalı) Salgın durumunda en az 3 hastadan örnek alınmalıdır.	Hastalığın erken dönemlerinde, mümkünse başladığı ilk 48 -72 saat içinde Antibiyotik tedavisine başlamadan önce	<2 saat; oda ısısında (<i>Shigella</i> spp. şüpheli olgularda taze dışkı 30 dakika içinde taşıma besiyeri içine alınmış olmalıdır) <24 sa; +4°C (Cary-Blair, Amies besiyeri) >24 sa; -20 °C	<i>Clostridium difficile:</i> Örnekler alındıktan sonra • Kültür için; <48 sa: 2-8 °C • GDH ve toksin testleri için; <2 sa: oda ısısı <24-72 sa: 2-8 °C (Dışkı herhangi bir ön işleme alınmaz). >72 sa: -20°C/ -70°C <i>Clostridium botulinum:</i> +4°C'de saklanır. Asla dondurulmaz.
	Viral etkenler			Dışkı kapları kilitli plastik poşetlere konur ve buz paketleri ile birlikte en geç 24 saat içinde +4°C'de laboratuvara gönderilmeli Gecikme olursa -70°C'de kuru buzda gönderilmeli	Örnekler alındıktan sonra antijen testi yapılana dek bir kaç gün +4°C'de saklanmalı PCR için dışkı örnekleri test edilene kadar -20°C veya -70°C'ye konulmalı
	Paraziter etkenler	Kap: Geniş ağızlı, vidalı kapaklı, plastik, sızdırmaz, temiz, kuru ve etiketlenmiş olmalı Miktar: 20-40 g (ceviz büyüklüğünde) veya 15-25 mL olmalı Dışkı idrar ve su ile karışmamış olmalı, tuvalet kağıdı üzerinden alınmamalı	Hastalığın ilk günlerinde Antibiyotik tedavisine başlamadan önce alınmalı Mikroskopi için; 10 gün içerisinde 3 örnek incelenmeli; 6 örnek alınacaksa (<i>G. intestinalis</i> ve <i>E. histolytica</i> için) 14 gün içerisinde tamamlanmalı; örnekler arasında en az 24 saat olmalı ve gün aşırı örnekleme tercih edilmeli İmmunoloji için; özellikle <i>G.intestinalis</i> tanısı için en az 2 örnek alınmalı	Dışkı kapları kilitli plastik poşetlere konmalı; Özellikle sulu ve şekilsiz dışkılar 30 dk veya 1 saat içerisinde oda sıcaklığında, Eğer gecikme olacaksa, yapılacak incelemeye göre seçilecek olan %10'luk formol, PVA veya SAF gibi saklama solüsyonları ile 1:3 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında gönderilmeli Eğer şehirlerarası bir taşıma olacaksa, üçlü paketleme yöntemi kullanılmalı	Kurumasına izin verilmemeli Taze preparat incelenecekse, dışkı buzdolabına konmamalı İmmunolojik yöntemler için; örnek çalışılana kadar çalışılacak yöntemin izin verdiği bir fiksatif içinde ya da +4°C'de saklanabilir. PCR için dışkı örnekleri test edilene kadar -20°C veya -70°C'de saklanmalı

Tablo 4.1. Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması (devam)

Örnek Türü	Etken	Alım özelliği	Örnek alma zamanı	Taşıma koşulları	Saklama koşulları
Dışkı			Örnek alınmadan önceki son 10-14 gün içinde, hastaya herhangi bir nedenle antiasitler, antidiyarek ilaçlar, mineral yağ, baryum veya bizmut verilmemiş, kolonoskopi yapılmamış olmalı		
			Bağırsak florasını etkileyen antibiyotikler, antiparaziter ilaçlar ve klorokin gibi antimalaryal ilaçlarla tedaviye başlanmadan dışkı örneği alınmalı Tedavi sonrası kontrol örnekleri; protozoon enfeksiyonlarından 3-4 hafta, helmint enfeksiyonlarından 5-6 hafta sonra alınmalı		
	Mantar	Uygun örnek değildir ¹			
Rektal sürüntü	Bakteriyel etkenler	Eküvyon anal sfinkterden 1-2 cm ilerletilir. Anal kriptlerden örnek alınacak şekilde rotasyon yaptırıldıktan sonra geri çekilmeli ve eküvyon ucunda mutlaka dışkı görülmelidir.	İshalin başladığı ilk günler, mümkün olduğunca erken dönemde ve antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınmalı	Bakteriyel etkenler için; sürüntü eküvyonu taşıma besiyerinin (Cary-Blair) içine daldırılır. Tüpün ağzı sıkıca kapatılır ve bir spora konarak laboratuvara gönderilir. N.gonorrhoeae şüphelenilen olgularda örnekler; kültür için <8 sa; oda ısısı (Stuart veya Amies taşıma besiyeri içine alınmış örnekler), NAAT için ise üretici firma önerileri doğrultusunda laboratuvara gönderilir. C.trachomatis; Klamidya taşıma besiyerinde, +4°C'de laboratuvara gönderilmeli NAAT için üretici firma önerileri doğrultusunda laboratuvara gönderilir.	<30 dk; Oda sıcaklığı <48 saat; +4°C
	Viral ve Paraziter etkenler	Uygun bir örnek değildir.			
Özofagus fırçalama/ biyopsi	Candida	Steril kapta			<2 saat; Oda sıcaklığı
	CMV HSV	Kültür ve NAAT için; Steril, vida kapaklı bir kapta	Kültür için; Buzda; en kısa sürede		<2 saat; Oda sıcaklığı (NAAT için)

Tablo 4.1. Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması (devam)

Örnek Türü	Etken	Alım özelliği	Örnek alma zamanı	Taşıma koşulları	Saklama koşulları
Kusmuk	Bakteriyel etkenler	Hastanın kusması halinde; Kap: Geniş ağzılı, vidalı kapaklı, sızdırmaz (steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) Miktar: En az 25-50 g olmalı	Hastalığın erken döneminde	<i>Clostridium botulinum</i> ; anaerob taşıma besiyerinde üçlü biyolojik materyal taşıma kabı içinde gönderilmelidir. <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Bacillus cereus</i> ; ≤ 1 sa; Oda ısısı > 1 sa; $+4^{\circ}\text{C}$	<i>Clostridium botulinum</i> ; $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanır Asla dondurulmaz <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Bacillus cereus</i> ; ≤ 48 sa; $+4^{\circ}\text{C}$ > 48 sa; kuru buz içinde (-70°C)
	Viral etkenler	Kap: Geniş ağzılı, vidalı kapaklı, sızdırmaz (steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) Miktar: En az 25-50 g olmalı		Norovirus ve Rotavirus enfeksiyonu şüphesinde; ≤ 1 sa; Oda ısısı $1-48$ sa; $+4^{\circ}\text{C}$ > 48 sa; kuru buz içinde laboratuvara taşınmalı	Norovirus enfeksiyonu; < 3 hafta; $+4^{\circ}\text{C}$ ≥ 3 hafta; -70°C
	Bakteri, Parazit, Mantar	Örnek apsenin merkezindeki nekrotik artıklardan alınmamalı, mümkün olduğunca "derin" ve lezyonun sınırına yakın "taze" alandan aspire edilmelidir. Kap: Geniş ağzılı, vidalı kapaklı, sızdırmaz (steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) Miktar: En az 1 mL olmalı Fazla materyal incelenmesi duyarlılığı artırır.	Cerrahi işlem sırasında ya da aseptik koşullarda, hekimi tarafından belirlenen zamanda alınmalı		< 30 dk; Oda sıcaklığı < 48 sa; $+4^{\circ}\text{C}$ Aerop/anaerop kültürler için; < 24 sa; Oda sıcaklığı Paraziter etkenler için uygun fiksatif ile karıştırılarak saklanmalı
Biyopsi (doku) ⁴	Bakteriyel etkenler	Örnek aseptik şartlarda hekim tarafından alınır. Doku örnekleri kurumasını önlemek için 1-2 mL steril SF içine alınabilir. Formol içermemelidir! H. pylori için; Transport besiyeri içeren steril bir kap		Alındıktan hemen sonra oda sıcaklığında laboratuvara gönderilmeli	Aerop/anaerop kültürler için; < 30 dk; Oda sıcaklığı < 24 sa; $+4^{\circ}\text{C}$
	Viral etkenler	Örnek aseptik şartlarda hekim tarafından alınır. Doku örnekleri, kurumayı önlemek için 1-2 mL steril PBS içine alınabilir. Formol içermemelidir!	Cerrahi işlem sırasında ya da aseptik koşullarda hekim tarafından belirlenen zamanda alınmalı	Örnek alındıktan hemen sonra laboratuvara ulaştırılmalı, oda ısısında bekletilmemeli	Örnek hemen çalışılacaksa; < 24 sa; $+4^{\circ}\text{C}$ 'de Hemen çalışılmayacak örnekler; -70°C 'de saklanmalı
	Paraziter etkenler	Örnek aseptik şartlarda hekim tarafından alınır. Doku örnekleri kurumayı önlemek için 1-2 mL steril SF içine alınabilir. Formol içermemelidir!		En kısa zamanda laboratuvara ulaştırılmalı, baskı preparat, parçalayarak preparat veya ezme preparat hazırlanarak da gönderilebilir	Buzdolabına konmamalı veya dondurulmamalı

Tablo 4.1. Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması (devam)

Örnek Türü	Etken	Alım özelliği	Örnek alma zamanı	Taşıma koşulları	Saklama koşulları
Biyopsi (doku) ⁴	Mantar	Steril kap kullanılmalı. Kurumayı önlemek için örnek birkaç damla SF ile ıslatılarak nemli tutulmalı <i>Doku örneğinin kayılması (H. capsulatum dışında), ancak ezilmemesi dokuda bulunan mantarın saptanması için gerekli Mucorales grubu için örneğin kayılması basamağı özellikle çok önemlidir.</i>		≤15 dk; oda ısı	≤24 sa; Oda ısı
Duodenal içerik	Bakteriyel etkenler, Paraziter etkenler	Geniş ağızlı, vidalı kapaklı, sızdırmaz(steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) bir kap içine en az 1 mL alınmalı	Cerrahi işlem sırasında ya da aseptik koşullarda hekim tarafından belirlenen zamanda	Alındıktan hemen sonra oda sıcaklığında laboratuvara gönderilmeli	<30 dk; Oda sıcaklığı <24 sa; +4 °C Paraziter etkenler için uygun fiksatif ile karıştırılarak saklanmalı
Duodenal kapsül (enterotest)	Paraziter etkenler	Doğrudan steril bir tüpe yeterli miktarda (en az 0.5-1 mL) Enterotest: İpli kapsül hastaya yutturulur, ipin ucu yanağa flaster ile tespit edilir. Duodenumda bekletilen kapsül 4 saat sonra çekilerek, içerdiği sıvı mikroskopi ile incelenmeli		En kısa zamanda laboratuvara ulaştırılmalı Eğer alındıktan sonra 2 saat içinde incelenemeyecek ise %10 formol içine konmalı	Buzdolabına konmamalı veya dondurulmamalı
Sigmoidoskopi materyali	Paraziter etkenler ⁵	Sigmoid kolondaki ülserli alanlardan aspirasyon veya kazıntı ile alınmalı Lezyon yoksa mukozal yüzeyden randomize örnek alınmalı En az 6 ayrı noktadan alınan örnekler, doku ve 1-2 mL dışkı/ mucus içermeli Alınan örneklerden mümkünse hemen mucus, dışkı ve biyopsi parçaları için ayrı ayrı olacak şekilde lamaların üzerine yaymalar yapılmalı, kalan örnek steril, vidalı kapaklı bir tüpe konmalı Preparatlar ve tüpler laboratuvara gönderilmeli Tüpler formol içermemeli, tüp içindeki örneklerin kurumasına izin verilmemeli, gerekirse üzerine 1-2 mL SF eklenebilir.	Ön tanı konduğunda, (dışkıda parazitolojik baki ile sonuç alınamamışsa)	Alındıktan hemen sonra oda sıcaklığında laboratuvara gönderilmeli Buzdolabına konmamalı veya dondurulmamalı	Eğer hemen gönderilemiyorsa, alındıktan hemen sonra uygulanacak inceleme yöntemine göre uygun fiksatif içine konulmalı (Yeterli miktarda örnek varsa %10 formol, PVA ve SAF içine ayrı ayrı konabilir veya klinisyen bilgilendirilebilir)

Tablo 4.1. Örnek türlerine ve etkenlere göre örneklerin alınması, taşınması ve saklanması (devam)

Örnek Türü	Etken	Alım özelliği	Örnek alma zamanı	Taşıma koşulları	Saklama koşulları
Safra tubaji	Bakteriyel ve Paraziter etkenler	Geniş ağzılı, vidalı kapaklı, sızdırmaz (steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) bir kap içine yeterli miktarda ya da anaerop taşıyıcı sistem içine alınmalı	Cerrahi işlem sırasında ya da aseptik koşullarda hekim tarafından belirlenen zamanda	Alındıktan hemen sonra oda sıcaklığında laboratuvara gönderilmeli	<30 dk; Oda sıcaklığı <24 sa; +4°C Paraziter etkenler için buzdolabına konmamalı veya dondurulmamalı Uygun fiksatif ile karıştırılarak saklanmalı
	Paraziter etkenler	Anal bant: Tercihen plastik bir lama yapışık olan selofan bantın bir kısmı lamdan ayrılarak perianal bölgenin en az 3-4 farklı alanına yapıştırılarak çekilmeli ve tekrar lama yapıştırılarak laboratuvara getirilmeli Anal sürüntü: Kuru tüp içindeki eküvyon nemlendirilerek anüs çevresinden yumurtalar toplanabilir. Ancak yüzeyel alınmalı, eküvyon anüsün içerisinden alınmamalı	Sabah duşa veya tuvalete gitmeden önce, en az 3-4 gün arka arkaya alınmalı		≤48 sa; Oda sıcaklığında veya +4°C'de
Parazit erişimini veya segmentleri	Paraziter etkenler	Parazitin çıkmasını engelleyecek, kapaklı bir kaba konmalı		Örneğin kurumasını engelleyecek SF veya %70'lik alkol içerisinde oda sıcaklığında taşınmalı ve saklanmalı	Oda sıcaklığı
Serum	Tüm etkenler	Jelsiz, antikoagülsüz tüpe (~5 mL)	Ön tanı konduğunda		Serum en fazla 1 hafta buzdolabında saklanabilir Daha uzun süre saklanacak ise -20°C veya -70°C'ye kaldırılmalı; çözülmeden kuru buzda laboratuvara ulaştırılmalı
Periton Sıvısı ⁶	Bakteriyel etkenler	Geniş ağzılı, vidalı kapaklı, sızdırmaz (steril naylon kapaklı idrar kabı kullanılabilir) bir kap içine yeterli miktarda ya da anaerop taşıyıcı sistem içine alınmalı. Santrifüj ÖNERİLMİYOR!	Cerrahi işlem sırasında ya da aseptik koşullarda hekim tarafından belirlenen zamanda	Alındıktan hemen sonra oda sıcaklığında laboratuvara gönderilmeli	<30 dk; Oda sıcaklığı; <24 sa; +4°C
	Mantar	Bakteri gibi alınır. Santrifüjlenir (2000 g'de 10 dk) ve kültür için sedimenti kullanılır	>10 mL örnek içeren steril kap, mayalar için kan kültürü şişesi	≤15 dk; Oda ısı	≤24 sa; 4°C
¹ Mantar değerlendirilmesi için dışı örneğinin gönderilmesi önerilmemektedir. <i>Candida</i> türlerinin çoğu normal dışı florasında yer almaktadır. Dolayısıyla normal GİS florasını bozan faktörler (ör; diyet, antibiyotik kullanımı vb.) mevcutsa, dışı kültürü yapıldığı zaman baskın olarak maya üremesi görülebilir. Ne maya ile kolonizasyon ne de baskın olarak maya üremesi saptanması <i>Candida</i> 'ya bağlı invazif enfeksiyonu göstermez. Eğer GİS'in invazif hastalığı düşünülüyorsa kolonoskopi yapılmalı, doku biyopsisi alınmalıdır.					
² Enjektör içinde gönderilen veya eküvyon ile alınan aspirasyon sıvısı örnekleri kabul edilmemelidir.					
³ Detaylı bilgi için bkz. KLİMUD Deri, Deri Ekləri, Yumuşak Doku Örnekleri-Göz Örnekleri Rehberi.					
⁴ Taşıma besiyeri olarak %20 gliserol içeren brucella sıvı besiyeri kullanılabilir.					
⁵ 3-6 kez dışı inceleme ve immunolojik yöntemlerin negatif sonuç vermesine rağmen hala şüpheleniliyorsa veya başka nedenlerle yapılan sigmoidoskopi sırasında alınan örneklerde çalışılması önerilir.					
⁶ Detaylı bilgi için bkz. KLİMUD Steril Vücut Sıvıları Örnekleri Rehberi.					



• Soğuk ve kuruluğa oldukça duyarlı olan *Shigella* türlerinin izolasyonu için dışkı örneği yerine rektal sürüntü örneği tercih edilmelidir.

• Kusmuk örneği gastroenterit viruslarının tanısı için düşük titrede virus içerdiğinden uygun örnek değildir. Bu örneğin viral incelemelerdeki duyarlılığı bilinmemekle birlikte örnek alınıp test edilebilir.

• Rektal sürüntü örnekleri yalnız yenidoğan bebeklerde dışkı kültürü yerine geçebilir. Erişkinlerde önerilmemektedir. Sadece dışkı veremeyen erişkinlerde ve epidemiyolojik çalışmalar için tercih edilebilir.

• Rektal sürüntü örnekleri rapor çıkıncaya kadar, gerektiğinde rutinde çalışılmayan *N.gonorrhoeae*, *Shigella*, *Campylobacter*, HSV ve grup B streptokok gibi etkenlerin çalışılması için saklanmalıdır.

• Eküvyon ile alınan dışkı örneklerinde parazitolojik inceleme yapılmaz.

5. DIŞKI ÖRNEKLERİ İÇİN RET ÖLÇÜTLERİ

Dışkı örnekleri için ret ölçütleri aşağıda sıralanmaktadır.

1- Aşağıda bahsedilen özel durumlar dışında, 3 günden daha uzun süre ile hastanede yatan hastalarda dışkı örneklerinin kültürü yapılmamalıdır (3 gün kuralı). 3 gün kuralı *C.difficile* için geçerli değildir. Yatan hastalarda enfektif diyare şüphesi durumunda *C.difficile* için gerekli testler yapılmalıdır.

3 günden daha uzun hastanede yatan hastalarda dışkı kültürünün yapılması gereken özel durumlar:

- Hastaneye yatıştan sonraki 3 gün içinde diyaresi olan hastalar
- Enterik bir enfeksiyonun diyare dışında klinik bulgularının saptanması durumunda
- Nozokomiyal diyaresi olan şu hasta gruplarında:
 - Organ yetmezliği olan 65 yaş ve üzeri hastalar
 - HIV (+) olan hastalar
 - Nötropenik hastalar

• Nozokomiyal salgın şüphesinde

2- Taşıma besiyerinde gelmeyen ve alındıktan sonra laboratuvara 2 saat içinde ulaşmayan örnekler

3- Taşıma besiyerinde +4°C'de 3 günden uzun ya da 25°C'de 24 saatten uzun süre beklemiş örnekler

4- Parazit incelemesi ve toksik megakolon ön tanısı olan olgular hariç olmak üzere katı şekilli dışkı örnekleri

5- Baryum ya da tuvalet kağıdı ile kontamine olmuş dışkı

6- Kuru eküvyon

7- *Shigella* spp. şüphelenilen olgular ve parazitolojik inceleme için sık dışkılama ile seyreden bol sulu ishaller hariç aynı hastadan aynı günde alınmış birden fazla örnek

8- Aynı hastadan 3 hafta içinde 3'ten fazla dışkı kültürü istenmesi

9- *C.difficile* şüpheli olgularda 24 saat içinde tekrar yapılan hücre kültürü istekleri

10- Oda ısısında saklanmış dışkıdan *C.difficile* sitotoksin çalışması istenmesi

11- Oda ısısında ve -20°C'de saklanmış dışkıdan *Clostridium botulinum* çalışması istenmesi

12- İshalin başlangıcından bu yana 6 günden fazla süre geçmiş vakalarda *E.coli* O157:H7 veya verotoksijenik *E.coli* çalışması istenmesi

13- Su veya idrarla karışmış örnekler

14- Parazitolojik inceleme için; önerilen süre içerisinde ve uygun sıcaklıkta gönderilmemiş örnekler, son 7-10 gün içerisinde lavman veya kolonoskopi yapılmış hastaların dışkı örnekleri, eküvyon ile alınmış örnekler, yüzeyi veya kenarları kurumuş örnekler

6. GİS ENFEKSİYONLARINDA TANIDA ÖNERİLEN MİKROBİYOLOJİK İŞLEMLER

GİS enfeksiyonları pek çok değişik etken tarafından oluşturulduğundan tanıda farklı klinik örnekler kullanılmakta ve çok farklı mikrobiyolojik işlemler gerçekleştirilmektedir. Bu örnekler bu bölümde sırasıyla dışkı ve rektal sürüntü örnekleri, gastrik biyopsi örnekleri ve safra tubajı örnekleri olarak incelenmektedir.

6.1. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örnekleri

GİS enfeksiyonlarında başlıca bakteri, virüs ve parazit, etken mikroorganizmalar olarak rol aldıklarından dışkı örnekleri bu üç ana başlık altında incelenmektedir. Bir başka yaklaşım ise etkenlerin tanısında kullanılan sendromik yaklaşımdır. Burada, benzer AKUT GASTROENTERİT klinik bulgularına neden olan farklı etkenlerin birbirlerinden ayırt edilmesi için gerekli işlem ve tanı basamaklarının bir bütün içerisinde değerlendirilmesi ve hastaya daha erken sonuç verilmesi hedeflenmektedir. Bu yaklaşım sporadik olgular ve salgın durumunda farklı özellikler göstermektedir. Sporadik olgulardaki gastroenterit ve ishal durumlarına ait sendromik yaklaşım akış şeması Şekil 6.1'de, salgın durumlarındaki sendromik yaklaşım ise Şekil 6.2'de özetlenmektedir.

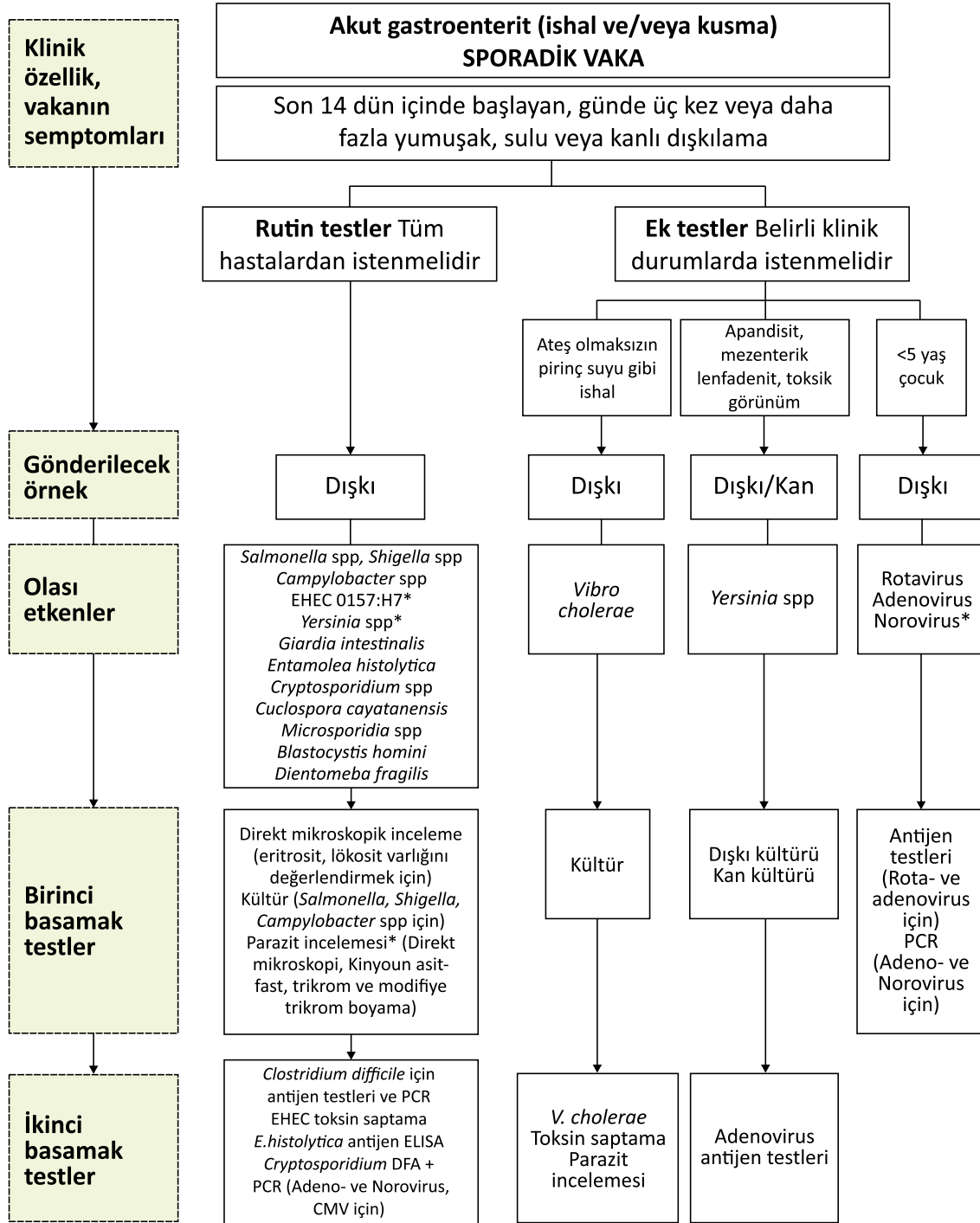
Akut gastroenterit olgularında sendromik yaklaşım Bölüm 6.1.1'de, bakteriyel etkenler Bölüm 6.1.2'de, paraziter etkenler 6.1.3'te, viral etkenler ise 6.1.4'te incelenebilir.

6.1.1. Akut Gastroenterit Olgularında Sendromik Yaklaşım

Akut gastroenterit ishal, bulantı, kusma, karın ağrısı ve hassasiyet, tenesmus, ateş ile kendini gösteren, dehidratasyon ve sepsise kadar uzanan klinik bir tablodur. İnflamatuvar etkenlerin yanı sıra kimyasal ve toksik maddeler de benzer tabloya neden olabilmektedir. Kabul edilebilir bir süre içinde etkeni belirlemek ve tanıyı koymak için akut gastroenteritlerin sendromik yaklaşımla ele alınması ve laboratuvarında buna uygun algoritmaların takip edilmesi önem taşımaktadır.

Salgın örneklerine uygulanacak testlere, salgın araştırmasına katılan mikrobiyologların, halk sağlığı profesyonellerinin ve hastanelerde enfeksiyon kontrol ekiplerinin işbirliğinde, klinik ve epidemiyolojik bilgiler ışığında karar verilmelidir

Sporadik olgularda ve salgın durumlarında, dışkı örneklerinde etken mikroorganizmaların tanımlanması Şekil 6.1 ve 6.2'deki akış şemalarında özetlenmektedir.

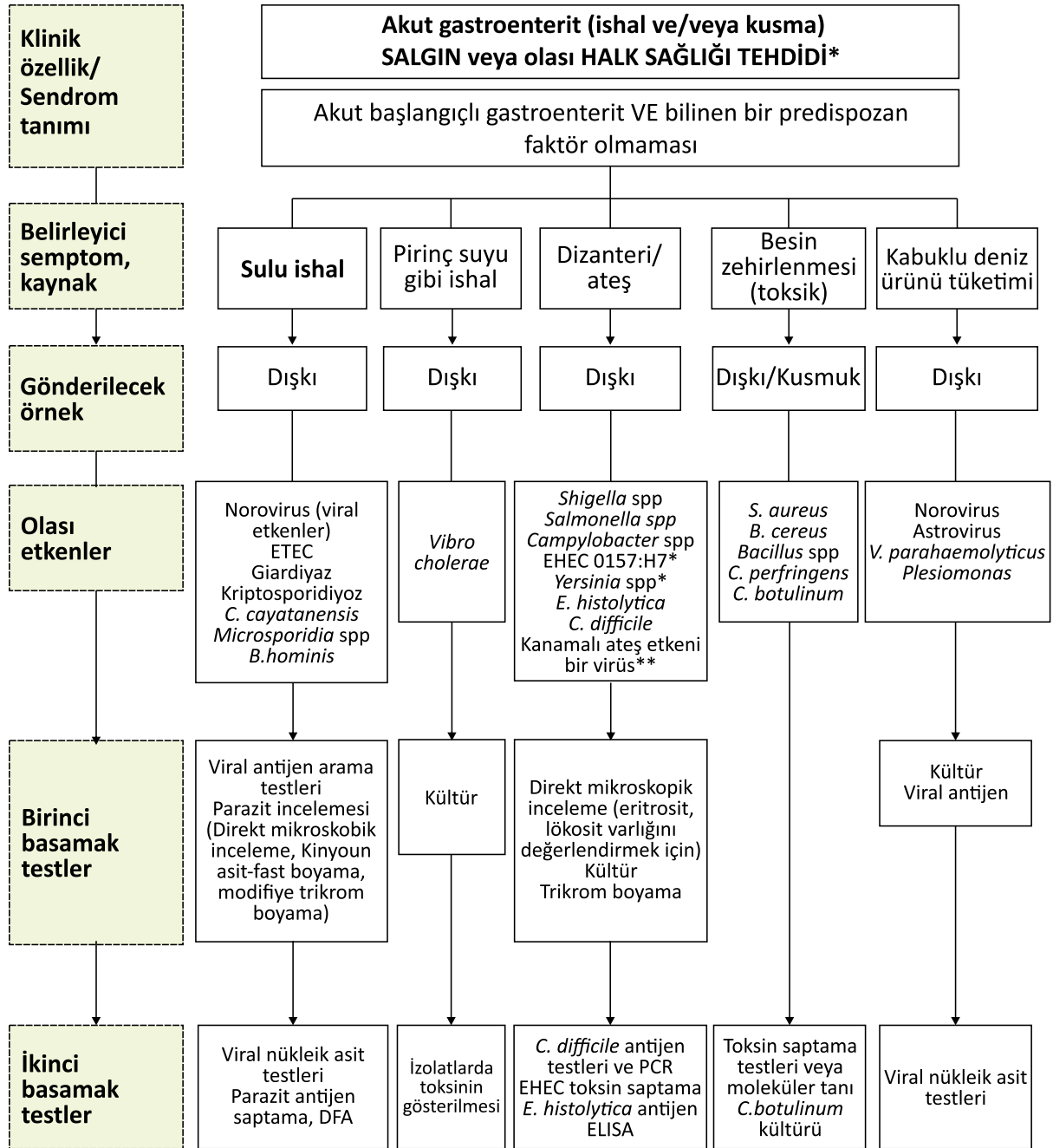


* Direkt bakıda eritrosit var ise bu etkenlerin de kültürü yapılmalıdır.

* Dışkıda parazit incelemesi hem direkt hem de konsantrasyon yöntemi ile yapılmalıdır; boyama yöntemleri lugol, trikrom, modifiye asit-fast, modifiye trikromu içerir.

* Norovirüs pozitif bulunan çocuk hastaların ishali olan erişkin yakınları da norovirüs enfeksiyonu yönünden değerlendirilmelidir.

Şekil 6.1. Sporadik gastroenterit ve ishal olgularında sendromik yaklaşım akış şeması (UMS Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberinin akut gastroenterit bölümünden alınmıştır)



* Bu akış şeması gıda ve su kaynaklı bir vaka veya salgın olayında enfeksiyöz boyutunu ele almaktadır. Ancak bazen ishale birlikte bulunan bulantı, kusma gibi GİS belirtileri yanı sıra nörolojik belirti ve bulgular, olayda toksikolojik nedenlerin araştırılmasını gerekli kılar.

** Kanamalı ateşler kanlı ishal ile başlayabilirler. Böyle bir etiyolojiden şüpheleniliyorsa, uygun örnek seçimi için "Kanamalı Ateş Sendromu Tanı Yaklaşımı" ile ilgili UMS'ye bakınız.

Şekil 6.2. Salgın durumunda sendromik yaklaşım akış şeması (UMS Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberinin Akut Gastroenterit bölümünden alınmıştır)

6.1.2. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örneklerinin Bakteriyel Etkenler Açısından İncelenmesi

6.1.2.1. Dışkı örneklerinin makroskopik/mikroskopik değerlendirilmesi

Dışkı örneği kıvam (şekli, yumuşak veya sulu vb.), renk (pirinç suyu rengi, sarı, kahverengi, mekonyum siyahı vb.) ve mukus/püy/kan içermesi yönünden değerlendirilip kaydedilmelidir.

Dışkının boyasız direkt mikroskopik incelemesinde lökosit/eritrosit varlığı araştırılabilir, ancak sayısal değerlendirme yapılmaz. Dışkı örneğinin incelemesinde oluşacak gecikmeler örnekte bulunan hücrelerin parçalanmasına ve yalancı negatif sonuçların elde edilmesine neden olur. Dışkı örneği direkt mikroskopik inceleme için, 2 saat, laktoferrin testleri için, 48 saat çıkmadan laboratuvara ulaştırılmaz. Ayrıca, birçok çalışma invazif etkenler ile oluşan enfeksiyonlarda dışkının yalnızca bazı alanlarında lökosit saptanabildiğini ve *C. difficile*'ye bağlı çok ciddi ishal vakalarının sadece %50'sinde PNL gözlemlendiğini bildirmektedir. Bu nedenle akut sekreteruar ve invazif ishallerin ayrımında dışkıda lökosit sayısı çok güvenilir bir yöntem değildir. Lökosit varlığı, toplumdan kazanılmış GE vakalarında invazif enfeksiyonu düşündürür. Hastanede yatan hastalarda ise yararlı değildir.

Laktoferrin testi, fekal lökositlerin araştırılmasında dışkı örneğinin incelenmesi sırasındaki gecikmelerden dolayı laktoferrinin etkilenmemesi nedeniyle daha güvenilir bir test olarak kabul edilir. Laktoferrin testi, dışkıda lökositlerin belli dönemlerde bulunabilmesi ya da dışkı örneğinde homojen dağılım göstermeyebilmeleri nedeniyle, pozitif bulunduğunda anlamlı kabul edilir. Bununla beraber, yapılan bir çok çalışmada inflamatuvar ve sekreteruar ishallerin birbirinden ayırt edilmesinde dışkıda laktoferrin araştırılmasının faydalı olmadığı gösterilmiştir.

Çeşitli enfeksiyonlarda dışkının mikroskopik ve makroskopik incelenmesine ait özellikler Tablo 6.1'de, dışkı örneklerinin taşınmasında kullanılan besiyerleri ve kullanım amaçları Tablo 6.2'de, rutin mikrobiyoloji laboratuvarında dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin mutlaka araştırılması ve tanımlanması gereken etkenler açısından değerlendirilmesi Tablo 6.3'te özetlenmektedir. Özel durumlarda ve istek üzerine incelemesi yapılacak etkenlere ise Tablo 6.4'te değinilmektedir.



- Dışkı örneklerinin direkt mikroskopik incelemesinde lamın bir tarafına bir damla metilen mavisi, diğer tarafına serum fizyolojik damlatılır ve her ikisi de dışkı ile karıştırılarak X400 büyütme ile incelenir.
- Dışkının metilen mavisi incelemesi için taşıyıcı besiyeri kullanılmamalıdır.
- Dışkının Gram boyama yöntemiyle incelenmesi önerilmemektedir.
- Dışkının taşıyıcı besiyerinde gönderilmesi durumunda ise lökosit ve eritrosit saptanma olasılığı azalır.
- Karın ağrısı ve kramplarla birlikte dışkıda makroskopik olarak kan ve mukus varlığı dizanteri bulgusu olabilir.
- *Campylobacter* türlerinin aranmasında; 30 dakika içinde serum fizyolojik ile incelenen taze dışkıda, hızla zigzaglar çizen (ok atar hareketi) mikroorganizmaların görülmesi durumunda bazik fuksin ile boyama yapılır. Bazik fuksin boyama testinin duyarlılığı %66-94 olarak saptanmıştır.
- Direkt mikroskopik incelemede PNL saptanmayıp yalnızca eritrosit görüldüğü durumlarda mutlaka ***E.coli* O157 kültürü ya da Shiga toksin/ verotoksin** testi yapılmalıdır.
- *Vibrio cholerae* tanısında kullanılan geleneksel yöntemlerden biri mikroskopik immobilizasyon testidir ve inceleme sırasında preparata *V. cholerae* O1 antiserumu damlatılarak hareketin durduğunun görülmesine dayanır. O139 antiserumu ile de yapılabilir.

Tablo 6.1. Çeşitli enfeksiyonlarda dışkının makroskobik ve mikroskobik incelenmesine ait özellikler ¹

Organizma	Makroskobik	Mikroskobik		
		PNL	Eritrosit	Mikroorganizma
<i>Campylobacter</i>	Özellik yok	Var	Var	Şişe mantarı patlamasına benzer hareketli çomaklar
Toksijenik <i>C. difficile</i>	Özellik yok	Var	Var	Özellik yok
Enterohemorajik <i>E. coli</i> 0157:H7 (EHEC/STEC/VTEC)	Sulu, kanlı	Yok	Var	Özellik yok
Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	Müköz	Var	Var	Özellik yok
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Sulu	Yok	Yok	Özellik yok
<i>Salmonella</i> spp.	Özellik yok	Az	Var	Hareketli çomaklar
<i>Shigella</i> spp.	Özellik yok	Var	Var	Hareketsiz çomaklar
<i>Vibrio cholerae</i>	Pirinç suyu görünümünde dışkı	Yok	Yok	Sinek uçuşmasına benzer, hızlı hareketli çomaklar
<i>Staphylococcus aureus</i> (enterotoksijenik)	Özellik yok	Yok	Yok	Özellik yok
Viruslar	Özellik yok	Yok	Yok	Özellik yok

¹ Bulgular olgulara göre değişiklik gösterebilir.**6.1.2.2. Dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin kültür yöntemi ile izolasyon ve identifikasyonu**

Dışkı örneklerinin kültür için laboratuvara gönderilmesinde kullanılan taşıma besiyerleri ve kullanım amaçları Tablo 6.2'de özetlenmektedir.

Tablo 6.2. Dışkı örneklerinin taşınmasında kullanılan besiyerleri ve kullanım amaçları

Taşıma Besiyeri	Kullanım Amacı
Cary-Blair besiyeri	Dışkı patojeni bakteriler (ör. <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Yersinia</i> vb.)
Stuart besiyeri	Aerop ve fakültatif anaerop bakteriler
Amies besiyeri	Aerop ve fakültatif anaerop bakteriler
Kömür tozlu Amies besiyeri	Gonokoklar
Tamponlanmış gliserol	Dışkı patojeni bakteriler
Anaerop taşıma besiyeri	Anaerop bakteriler

Dışkı örneklerinin incelenmesinde *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter*'e yönelik testler tüm rutin tanı laboratuvarlarında mutlaka yapılmalıdır. Türkiye'de; *Y. enterocolitica*, *Aeromonas* ve *Plesiomonas* türleri ile *Vibrio* türlerinin görülme sıklığı oldukça düşük olduğundan, rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu mikroorganizmalara yönelik seçici besiyeri kullanılması önerilmez. Bununla beraber bazı laboratuvarlarda özel istek üzerine bu ve bazı diğer tanımlanması gerekli mikroorganizmalara yönelik çalışmalar da yapılabilir.

Hastanede yatan hastalar ve sağlık çalışanlarında vankomisin dirençli *Enterococcus* (VRE) asemptomatik taşıyıcılığını araştırmak için, dışkı veya perirektal sürüntü örnekleri kullanılabilir.

Genellikle *Mycobacterium* spp. için AIDS hastalarında TDM tespiti hariç, dışkı kültürü önerilmemektedir. Dışkının aside dirençli boyama ile direkt incelemesinin duyarlılığı %32-34 olmak üzere oldukça düşüktür. Dolayısıyla direkt mikroskopik inceleme ile bu hastaların taranması yeterli değildir.



Dışkı kültürünün yanı sıra hızlı antijen testleri veya moleküler testler de çalışılacaksa taşıma besiyerine çift eküvyon yerleştirilmeli veya çift uçlu eküvyon kullanılmalıdır.



- Dışkının normal flora elemanlarının baskın şekilde üremelerini engellemek amacıyla Selenite F besiyerine veya gram negatif buyyona ekilen örneklerden 6 ile 8. saatte ve 12-18. saatlerde subkültür yapılmasına dayanan zenginleştirme işlemi rutin dışkı kültürlerinde önerilmez, yalnızca gıda sektöründe çalışanlarda yapılan tarama kültürlerinde önerilmektedir.
- *Shigella* spp. şüphesi ile zenginleştirme işlemi yapılmaz.



- *Salmonella* gastroenteritinde antibiyotik kullanılması enfeksiyonu sınırlamaz, konvalesan dönemin uzamasına ve asemptomatik taşıyıcılığa neden olur. Bu nedenle komplike olmamış olgularda antibiyotik tedavisi önerilmez. Yalnızca bakteriyemili olgularda antibiyotik tedavisi endikasyonu mevcuttur. Tifoid ateş olgularının yaklaşık %3'ü ve *Salmonella* gastroenteriti olgularının %0.2-0.6'sı bir yıldan fazla süreyle dışkı ya da idrarlarında *Salmonella* spp. taşımaları durumunda asemptomatik taşıyıcı olarak adlandırılmaktadır. Bakteri safra yollarına yerleşebilir ve safra taşına bağlı tıkanıklık olan hastalarda eradikasyonu güçtür.
- *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* A, B veya C'nin neden olduğu ve sistemik enfeksiyon bulguları ile seyreden tifo ve enterik ateş olgularında etken her zaman dışkıdan izole edilemeyebilir. Kan, safra, kemik iliği veya idrar örnekleri alınarak kültürlerinin yapılması yararlı olabilir.

Dışkıda patojen olan bazı bakteriler için özel kültür yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir. Ayrıca bu bakteriler arasında yer alan *Vibrio*, VTEC ve *C. difficile*'ye bağlı enfeksiyonlar, bakterilerin ürettikleri toksinlere bağlı olduğundan dolayı izolasyon ve identifikasyon testlerinin yanısıra, tek başına veya kültür testleri ile birlikte toksijenite testlerinin de kullanılması önerilmektedir. Bu testler ile ilgili ayrıntılı bilgilere ilgili bölümlerde ulaşabilirsiniz (bkz. sayfa 23, 27, 28).

Rutin tanı laboratuvarlarında dışkı örneklerinden mutlaka incelenmesi gereken patojen etkenlerin izolasyon ve identifikasyonuna yönelik inceleme yöntemleri Tablo 6.3'te, dışkı örneklerinden isteğe bağlı olarak yapılacak patojen etkenlere yönelik besiyeri ve özellikleri ise tablo 6.4'te özetlenmektedir.

Tablo 6.3. Dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin mutlaka incelenmesi gereken bakteriyel etkenler yönünden değerlendirilmesi

Etken	Kültür ¹					Önerilen minimum düzeyde tanımlama
	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme zamanı	
		Isı (°C)	Atmosfer	Süre (sa)		
Salmonella, Shigella ²	MacConkey /EMB agar + Seçici besiyerleri (SS/ XLD/ HE agar)	35-37	Aerop ortam	16-24	24. saatte negatif olan kültürler 48.saatte yeniden değerlendirilmelidir	Temel tanımlama
	Mannitol selenite buyyon	35-37	Aerop ortam	16-24	Salmonella izolasyonu için 16-24 saat sonra XLD agara pasaj yapıp, üreme 16-24. saatlerde değerlendirilir	Temel tanımlama
Campylobacter ³	Campylobacter besiyerleri (CCDA/ Butzler/ Skirrow agar)	42-43	Mikroaerofilik ortam (%5 O ₂ , %10 CO ₂ , %85 N ₂)	≥48	72.sa	Temel tanımlama
¹ Bütün agar plaklarının "Üreme olmadı" olarak raporlanması 48 saatlik inkübasyonun ardından gerçekleştirilmelidir.						
² Salmonella ve Shigella türlerinin temel tanımlamasında kullanılan seçici besiyerlerine Mac Conkey ya da EMB besiyerlerden en az biri eklenmelidir.						
³ İnsanda en sık enfeksiyon etkeni olan Campylobacter türleri (C. jejuni, C. coli ve C. lari) termofilik olup, besiyerleri tercihen 42°C'de, yoksa 37°C'de mikroaerofilik ortamda inkübe edilmelidir.						

Tablo 6.4. Özel durumlarda isteğe bağlı olarak eklenebilecek besiyerleri ve özellikleri

Etken	Kültür				Özellik
	Standart besiyeri	İnkübasyon		Süre (sa)	
		Isı (°C)	Atmosfer		
<i>Aeromonas</i>	Ampisilinli (20µg/mL) kanlı agar ¹	35-37	Aerop ortam	18-24	Kanlı agar: Beta hemoliz (+) Oksidaz (+)
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	İnositol-brilliant green-bile salt agar ¹	35-37	Aerop ortam	18-24	<i>P.shigelloides</i> : Beyaz-pembe koloniler Koliformlar: yeşil ya da pembe
<i>Y.enterocolitica</i> ²	Sefsulodin-Irgasan-Novobiyoisin (CIN) agar	28-30 veya 25	Aerop ortam	48	<i>Y.enterocolitica</i> ve <i>Aeromonas spp.</i> : Ortası koyu kırmızı, kenarları transparan “boğa gözü” görünümünde koloniler oluşturur.
	Soğukta zenginleştirme besiyeri (%1 peptonlu tamponlanmış tris)	4-8	Aerop ortam	21 gün	<i>Citrobacter</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> : Kırmızı koloniler
<i>E.coli</i> O157 ve O157 dışı VTEC ³	Sefksim-tellüritli sorbitol MAC (CT-SMAC) agar	35-37	Aerop ortam	18-24	7-14-21. günlerde CIN veya MAC agar besiyerlerine subkültür yapılır
<i>V.cholerae</i>	Kanlı agar	35-37	Aerop ortam	18-24	<i>E. coli</i> O157: Renksiz koloniler O157 dışı VTEC: Pembe veya renksiz koloniler
	Tiyosülfat sitrat safra tuzlu sukroz agar (TCBS) ^{4,5}	35-37	Aerop ortam	18-24	Kanlı agar: 2-3 mm; beta hemolitik koloniler görülebilir
	Alkali peptonlu su (APS)	35-37	Aerop ortam	5-8	<i>V.cholerae</i> , <i>V.fluvialis</i> , <i>V.furnissii</i> : Sarı koloniler <i>V.parahaemolyticus</i> , <i>V.mimicus</i> , <i>V.hollisae</i> : Mavi koloniler <i>Proteus</i> : Sarı koloni oluşturur. Diğer enterik bakteriler: inhibe olmazsa mavi/şeffaf koloniler meydana getirirler.
<i>Clostridium difficile</i> ^{6,7}	Sikloserin-sefoksitin-yumurta sarısı agar (CCFA)	35-37	Anaerop ortam	48-72	TCBS agara pasaj yapıp, 16-24 saat sonra değerlendirilir.
VRE Taraması ⁸	5 mg/mL vankomisin Enterococcosel içeren seçici zenginleştirici buyyon veya 6 mg/mL vankomisin içeren kolistin-nalidiksik asit kanlı agar	35-37	Aerop ortam	18-24	48-72 saat anaerop ortamda inkübasyon Büyük gri koloniler Uzun dalgalı boylu uv ışık altında yeşil-sarı floresans
Değişken hemoliz; α, β hemolitik veya hemolizsiz koloniler Genellikle 1-2 mm boyutunda, ıslak görünümlü koloniler					
¹ Çoğu <i>Vibrio</i> , <i>Plesiomonas</i> ve <i>Aeromonas</i> beta hemolitik olmasıyla kanlı agarda saptanabilir. Çoğu <i>Vibrio</i> spp hem kanlı agarda hem de MAC'da üreyebilir.					
² <i>Yersinia</i> için CIN ve MAC agar besiyerleri 25°C'de 48 saat inkübe edilmelidir.					
³ <i>E.coli</i> O157:H7 ve Shiga toksin oluşturan VTEC serotiplerinin izolasyon olasılığı, klinik semptomların başlamasından sonraki 6 gün içinde toplanan dışkı örneklerinde en yüksektir.					
⁴ Kültürler etüvden çıkarıldıktan sonra hemen değerlendirilmelidir, çünkü oda sıcaklığında koloni rengi sarıdan yeşile dönüşebilir.					
⁵ <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Proteus</i> ve <i>Enterococcus</i> türleri de TCBS besiyerinde üreyebilir. Bazı <i>Vibrio</i> türlerinin üremesi ise inhibe olur.					
⁶ Kültürler anaerop kabin dışına çıkarılmamalı ve anaerop kavanoz kullanılıyorsa 48 saatten önce incelenmemelidir.					
⁷ Salgın durumlarında sporulasyonun gerçekleştiğinden emin olmak amacıyla, 48-72 saatlik kültürler referans laboratuvara gönderilmelidir.					
⁸ Dışkınn yanı sıra rektal veya perirektal sürüntü örnekleri kullanılabilir.					

Son yıllarda bakteri identifikasyonu için yaygın olarak kullanılan MALDI-TOF sistemi, patojenik ve patojenik olmayan *E. coli*'leri ayırt edememektedir. Yakın genetik ilişkileri nedeniyle *E.coli-Shigella* ayrımı yapamaması, bu yöntemin bir diğer sınırlılığıdır.



Alternatif olarak, *E. coli*, *Salmonella*, *Enterococcus* gibi bakterilerin dışkı gibi örneklerden izolasyonu için çeşitli kromojenik besiyerleri mevcuttur. Değişik suni substratlar içeren bu besiyerlerinde bakteriler, ürettikleri özgül mikrobiyal enzimlerin hidrolizi sonucunda renkli bileşikler oluşturarak, farklı renklerde koloniler meydana getirirler.



Salgın durumlarında izole edilen bakteriler doğrulama, tiplendirme, antimikrobiyal duyarlılık testleri ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar yapılmak üzere referans laboratuvara gönderilmelidir.



VEROTOKSİJENİK E. COLI İLE İLGİLİ AKILDA BULUNDURULMASI GEREKENLER

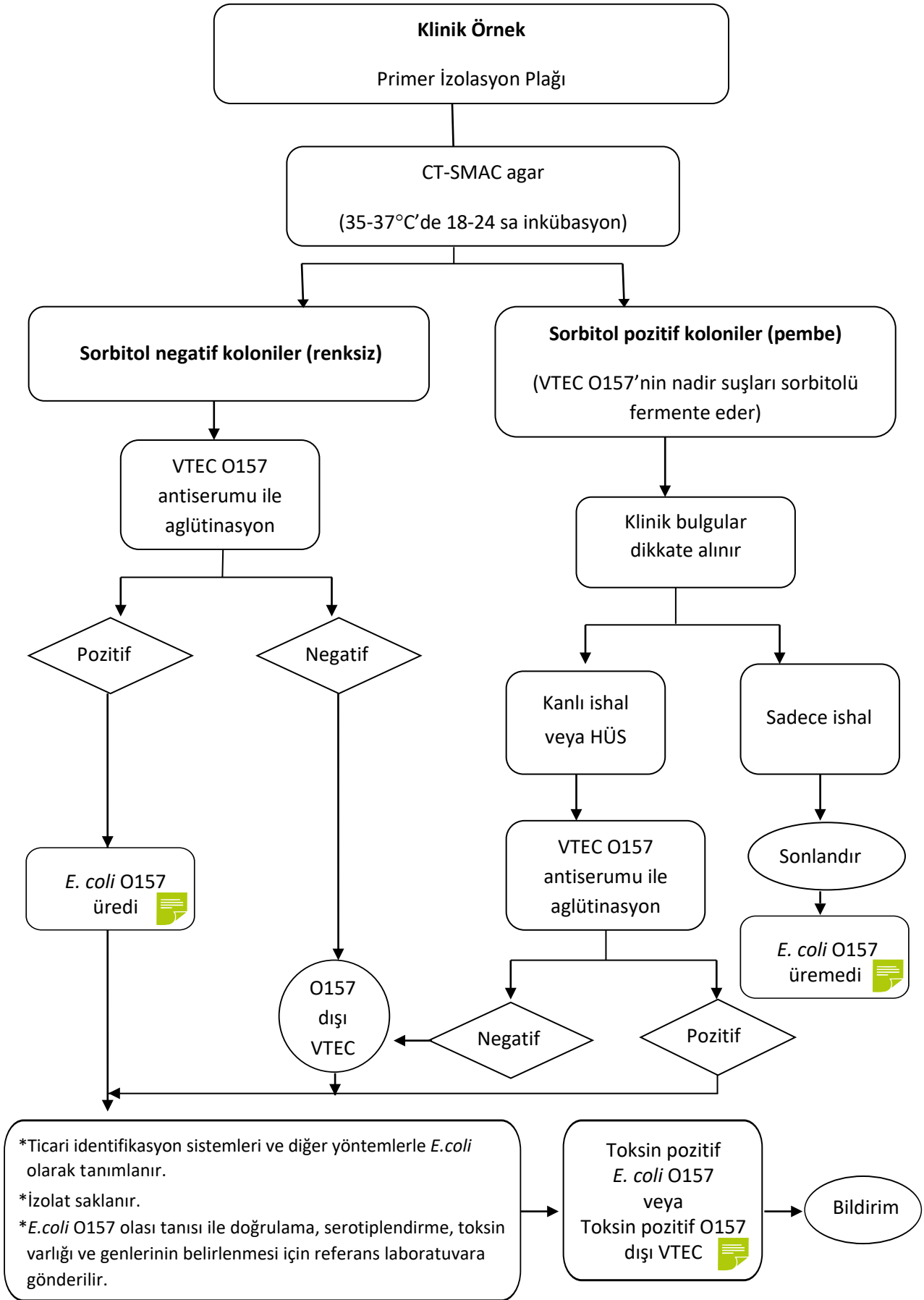
VTEC enfeksiyonunu düşündüren klinik bulgular varsa dışkı örnekleri CT-SMAC besiyerine ekilir. Bu besiyerinde 2-3 mm çapında, sorbitolü fermente etmeyen renksiz koloniler *E. coli* O157 yönünden incelemeye alınmalıdır. O157 antiserumu ile aglütinasyon veren tüm izolatlar doğrulama, serotiplendirme, toksin varlığının fenotipik ve genotipik yöntemlerle saptanması amacıyla referans laboratuvara gönderilmelidir.

Nadiren bazı *E. coli* O157 suşları sorbitolü fermente ederek, CT-SMAC besiyerinde pembe renkli koloniler oluştururlar. Özellikle 15 yaş altı çocuklarda ve 65 yaş üstü erişkinlerde sorbitol pozitif koloniler gözlemlendiğinde şunlar yapılmalıdır;

- Sorbitolü fermente eden kolonilere *E. coli* O157 antiserumu ile aglütinasyon testi uygulanmalıdır.
- O157 antiserumu ile aglütinasyon testi pozitif bulunursa *E.coli* tanımlaması doğrulanmalıdır.
- *E. coli* O157 olarak tanımlanan tüm izolatlar (sorbitol pozitif ya da negatif), adi agarda stoklanmalı ve doğrulama, verotoksinin fenotipik olarak gösterilmesi ve PCR ile verotoksin geninin tespiti için referans laboratuvara gönderilmelidir.
- VTEC O157 izole edilmemiş şüpheli olgularda dışkı örnekleri, verotoksin oluşturan O157 dışındaki *E.coli* serogruplarının araştırılması amacıyla referans laboratuvara gönderilmelidir.
- PCR, patojenik *E.coli*'nin saptanmasında kullanılacak hızlı, duyarlı ve özgül bir yöntemdir. Verotoksin ve O157 serotipi, in house veya gerçek zamanlı PCR ile ortaya konabilir. Doğrudan dışkı örneği veya zenginleştirme kültürlerinden eşzamanlı bakteriyel etkenleri tespit eden ticari PCR sistemleri geliştirilmiştir (bkz. sayfa 45,46).

VTEC O157 laboratuvar tanısında izlenebilecek akış şeması Şekil 6.3'te özetlenmektedir.

Kültür plaklarında üreyen ve çeşitli biyokimyasal testler veya ticari identifikasyon sistemleri ile *E. coli* olarak doğrulanan izolatlar, *E.coli* O157 antiserumu ile serotiplendirilir.



Şekil 6.3. VTEC O157 laboratuvar tanısı akış şeması



C.DIFFICILE İLE İLGİLİ AKILDA BULUNDURULMASI GEREKENLER

- Hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenlerinden biri olup, hastanelerde ve yaşlı bakımevlerinde salgınlara neden olabilir.
 - *C. difficile* hastane ortamları, toprak, hayvan ve insan dışkılarından izole edilebilir.
 - Erişkinlerde nadiren normal florada bulunur. Yenidoğanların yaklaşık %50'sinde ilk aylarda kolonizasyon görülür. Toksik *C. difficile* kolonizasyonu 2 yaşına kadar devam edebilir, ancak çok nadiren hastalığa neden olur. Bu nedenle iki yaşın altındaki çocuklarda test edilmesi önerilmez.
 - Yaşlılarda muhtemelen doğal bariyerlerin etkinliğinin azalması nedeniyle daha sık enfeksiyona neden olur. 65 yaş üstü tüm antibiyotiğe bağlı ishal ve psödomembranöz kolit tanısında *C. difficile* araştırılmalıdır. Özellikle genel cerrahi ve onkoloji hastaları ile kronik böbrek hastalığı olan bireyler *C. difficile* enfeksiyonu açısından risk altındadır.
 - Diyaresi olan hastalarda, başka bir etken izole edilmediyse dışkıda toksin saptanması genellikle CDI düşündürür.
 - Bakterinin izolasyonu epidemiyolojik çalışmalar için yapılmalıdır. Sporadik olgularda sadece toksin varlığının gösterilmesi yeterlidir. Ancak tüm izolatların toksin oluşturmadığı akılda tutulmalıdır.
 - Psödomembranöz kolit kesin tanısı endoskopik kolonik psödomembranların ya da mikroabselerin saptanması ile konulur ve bu dokular kültür testlerinde kullanılabilir.
 - Altın standart *C.difficile* toksin nötralizasyon testidir. Ancak toksin saptanmasında ELISA ve lateks aglütinasyon yöntemleri de kullanılabilir. Lateks aglütinasyon kitleri mevcut olmakla birlikte toksin saptamada ELISA testlerine kıyasla düşük duyarlılığa sahiptir. Toksin A ve B'yi bir arada saptayan ticari ELISA testleri tercih edilmelidir çünkü toksin A (-), toksin B (+) suşlarla enfeksiyon bildirilmiştir.
 - Sadece paralitik ileus durumunda dışkı yerine rektal sürüntü örneği kullanılabilir.



- Şekli dışkı örnekleri *C. difficile* araştırılması için uygun değildir. Bu tip örnekler kabul edilmemelidir.
- *C. difficile* toksininin araştırılması için sürüntü örnekleri uygun değildir.

C. difficile tanısında kullanılan testler ve özellikleri Tablo 6.5'te özetlenmektedir.

Tablo 6.5. *Clostridium difficile* tanı testlerinin özellikleri

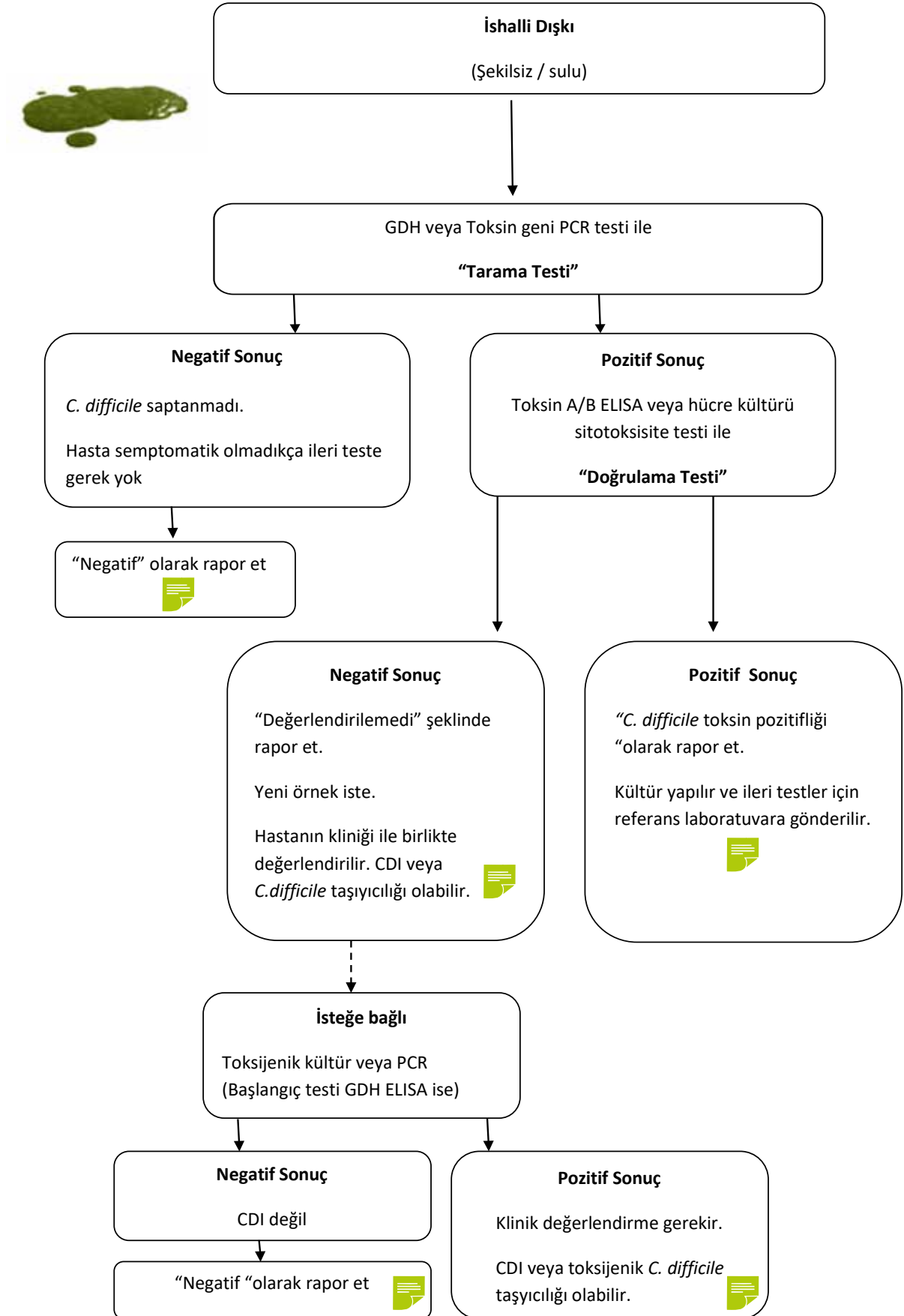
Test	Duyarlılık	Özgüllük	Uygulama	Amaç	Kullanım
<i>C. difficile</i> kültürü	Düşük	Orta	Sınırlı	Dışkıdan <i>C.difficile</i> izolasyonu	Tanıda kullanılmaz Sadece toksijenik bakteri ile hastalık oluşumu
Toksijenik kültür	Yüksek	Yüksek	Sınırlı	Toksin üreten <i>C.difficile</i> varlığının ELISA veya hücre kültürü yöntemi ile saptanması	Referans yöntem Epidemiyolojik araç Tanıda sınırlı kullanım
<i>C. difficile</i> toksin nötralizasyon testi	Yüksek	Yüksek	Sınırlı	Dışkı veya izolat süpernatantlarında, hücre kültürü yöntemi ile <i>C. difficile</i> toksininin gösterilmesi ve özgül antitoksin ile nötralizasyonu	Referans yöntem Tanıda sınırlı kullanım
GDH	Yüksek	Düşük	Yaygın	Dışkı veya izolatta glutamat dehidrogenaz varlığının saptanması	Tanıda tarama testi olarak kullanım Doğrulanmalı
Toksin ELISA testi	Düşük	Yüksek	Yaygın	Dışkı veya izolatta toksin varlığının ELISA yöntemi ile saptanması	Toksin A+B'yi saptamalı Düşük duyarlılık
Nükleik asit amplifikasyon testleri	Yüksek	Yüksek	Yaygın	Dışkı veya izolatta nükleik asit amplifikasyon yöntemi ile <i>C.difficile</i> 'ye özgü toksin ve diğer gen bölgelerinin saptanması	Sadece akut hastalık evresinde kullanım Yalancı pozitiflik dikkate alınmalı

Glutamat dehidrogenaz (GDH), *C. difficile*'nin tüm ribotiplerinde bulunan metabolik bir enzimdir. Organizmanın aranmasında tarama testi olarak GDH ELISA kullanılır. Duyarlılığı yüksek bir testtir, ancak toksin negatif ve pozitif bakteri ayrımı yapmaz. Sonuç pozitif ise bir doğrulama testi ile doğrulanmalıdır. Testin duyarlılığının %75-99 arasında değiştiği ve O27 dışı *C. difficile* ribotipi içeren pozitif örneklerde testin daha düşük duyarlılık gösterdiği bildirilmiştir.

- GDH ve toksin A/B'nin her ikisini birden saptayan kombine hızlı membran ELISA testleri mevcuttur.
- GDH'yi saptayan lateks aglütinasyon testi de mevcuttur.
- Toksin pozitif bulunan örnekler, tiplendirme çalışmaları için 4°C veya -20°C'de, mümkünse -80°C'de saklanmalıdır.

C. difficile tanısında tarama ve doğrulama amacıyla iki veya üç test adımının uygulandığı çeşitli algoritmalar tanımlanmıştır. Çok adımlı algoritmalar maliyet-etkin olmaları nedeniyle tercih edilir. Çünkü gereksiz ve yetersiz tedavileri önler, daha ucuz başlangıç tarama testleri ile negatif örnekleri ayırt eder ve daha pahalı NAAT testlerinin kullanımını azaltırlar. Toksin A/B ve GDH testlerinin her ikisi de pozitif veya her ikisi de negatif ise sonuç kabul edilir. Eğer test sonuçları arasında uyumsuzluk varsa, moleküler testler veya hücre kültürü toksin nötralizasyon testi ile doğrulama yapılmalıdır.

C. difficile tanısında kullanılan çok adımlı algoritma Şekil 6.4'te, farklı test stratejilerinin özellikleri Tablo 6.6'da özetlenmektedir.

Şekil 6.4. *C.difficile* tanı algoritması

Tablo 6.6. *Clostridium difficile* tanısında kullanılan farklı test stratejilerinin değerlendirilmesi

Test	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Sadece Toksin A/B ELISA	32-98.7	84-100
GDH ve Toksin A/B ELISA	41-92	94-100
GDH/ Toksin A/B ELISA ve Moleküler Test	68-100	97-100
Sadece Moleküler Test	73-100	91-100

6.1.2.3. Bakteriyolojik inceleme sonuçlarının raporlanması

a) Direkt mikroskopik inceleme

Lökosit ve/veya eritrosit görüldü/görülmedi

b) Kültür

Rutinde test edilen patojen etkenlere göre raporlama yapılır.

Pozitif sonuç: “..... üredi, üremedi” şeklinde rapor edilir.

Örnek: *Salmonella* Grup D üredi, *Shigella* ve *Campylobacter* üremedi.

Negatif sonuç: “*Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* spp üremedi” şeklinde rapor edilir.

Eğer normal flora elemanı gram negatif enterik bakteriler kültürde saptanmadı ise “**Üreme olmadı**” şeklinde rapor edilir.

c) Özel istek durumunda bildirilecek bakteriler

Test edilen patojenlere göre raporlama yapılır.

Pozitif sonuç: “*C. difficile* toksin pozitif bulunmuştur.”

Negatif sonuç: “*E. coli* O157 ve *Vibrio* üremedi.”

C.difficile: (CDC brucella agar besiyeri/sikloserin-sefoksitin fruktoz besiyerinde) 48.saat sonunda “*C. difficile* üremedi” şeklinde raporlandırılır. İkinci 48. saat sonunda hücre kültüründe sitopatik etki saptanmamışsa; “*C. difficile* toksini saptanmadı” olarak bildirilir.

Y.enterocolitica: *Y.enterocolitica* üredi/üremedi.

Aeromonas spp: *Aeromonas* spp üredi/üremedi.

P.shigelloides: *P.shigelloides* spp üredi/üremedi.

Diğer örnek tipleri için üreyen organizmaya özel raporlama uygulanır.

d) Özel durumlar

- *S. aureus* veya *P. aeruginosa* predominant olarak veya fazla üremiş ise “.....predominant/ saf kültür olarak üredi.” şeklinde rapor edilir.

- Eğer gıda kaynaklı bir enfeksiyonda *S.aureus* saptanırsa bu etken olduğunu göstermez. Aynı zamanda dışkıda veya gıdada bakteri toksini de saptanmalıdır.

- Kültürde maya predominant olarak veya saf kültür şeklinde ürerse, cins veya tür identifikasyonu yapılmadan rapor edilir.

- İshalli hastada *Klebsiella* spp. gibi nadir bir flora elemanı saf kültür şeklinde ürerse ve başka bir etken izole edilememişse rapor edilir.

- Sorbitol negatif koloniler O157 lateks testinde veya antiserum ile pozitif reaksiyon verirse “*E. coli* O157 pozitif” olarak rapor edilir. Toksin testi yapılmış ve pozitif ise “Toksin pozitif *E. coli* O157 üredi” olarak rapor edilir.

- İzole edilen bakteriler doğrulama ve serotiplendirme için referans laboratuvara gönderilmelidir.

Dışkı ve rektal sürüntü kültürlerinin raporlanması ile ilgili ayrıntılar Tablo 6.7’da özetlenmektedir.



Dışkıda tek başına *Pseudomonas*, *Klebsiella* veya *Candida* ürediğinde bunun "**kolonizasyon, süperenfeksiyon veya rekolonizasyon**" olabileceği belirtilmeli ve antibiyotik duyarlılık testi yapılmamalıdır. Ayrıca klinisyenle iletişime geçilmesi önerilir.

Tablo 6.7. Dışkı ve rektal sürüntü kültürlerinin raporlandırılması

Etken ¹	Kültür	
	Negatif	Pozitif
Rutinde test edilen patojen etkenler		
<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i>	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i> üremedi	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i> üredi
Özel istek durumunda bildirilecek mikroorganizmalar		
<i>C. difficile</i>	Toksin negatif <i>C. difficile</i>	Toksin pozitif <i>C. difficile</i>
<i>E. coli</i> 0157	<i>E. coli</i> 0157 üremedi	<i>E. coli</i> 0157 üredi
	Toksin negatif <i>E. coli</i> 0157 üredi	Toksin pozitif <i>E. coli</i> 0157 üredi
<i>Vibrio</i>	<i>Vibrio</i> üremedi	<i>Vibrio</i> üredi
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Y. enterocolitica</i> üremedi	<i>Y. enterocolitica</i> üredi
<i>Aeromonas</i> spp	<i>Aeromonas</i> spp üremedi	<i>Aeromonas</i> spp üredi
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>P. shigelloides</i> üremedi	<i>P. shigelloides</i> üredi
¹ Kültürde normal flora elemanları üremedi ise "Üreme olmadı" şeklinde rapor edilir		

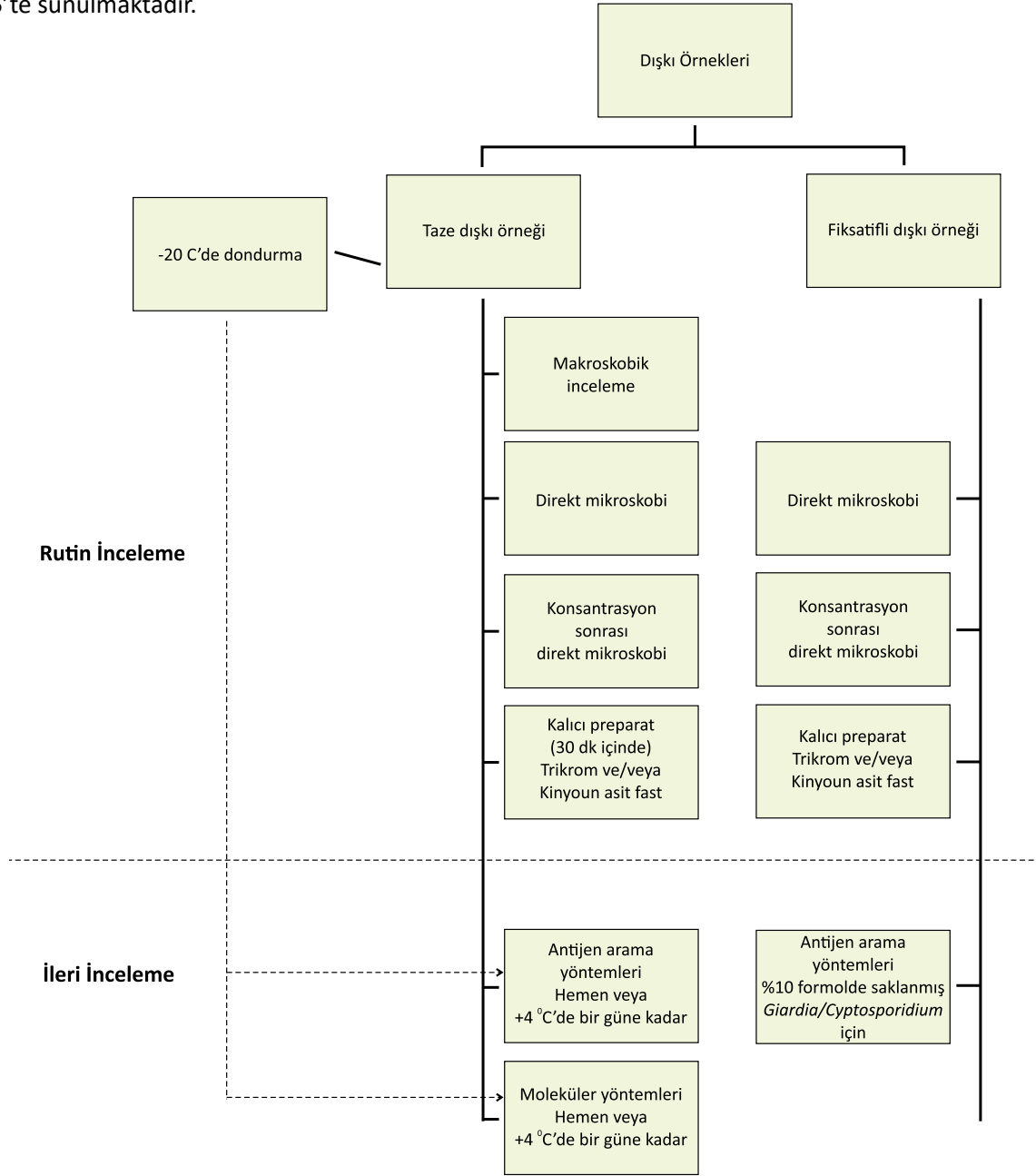
Laboratuvardan bildirimi zorunlu bir etken tespit edildiğinde, Bulaşıcı Hastalıkların İhbar ve Bildirim Sistemi genelgesine uygun olarak Grup D Enfeksiyon Etkenleri Bildirim Fişi (Form 014-D) doldurularak, İl Sağlık Müdürlüğüne bildirim yapılmalıdır (bkz. sayfa 53, 54).



- *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* gibi etkenler serolojik olarak aglütinasyon testi ile doğrulandıktan sonra rapor edilmelidir.
- *Vibrio cholerae*, VTEC ve *C. difficile* izolatları toksin varlığı saptandıktan sonra rapor edilmelidir.
- *Vibrio cholerae*, *Salmonella* Typhi ve dışkı ile aynı zamanda idrar veya steril bir vücut sıvısından izole edilen *Salmonella* izolatları için antimikrobiyal duyarlılık testleri çalışılmalı ve rapor edilmelidir. *E. coli* 0157 ve O157 dışı VTEC izolatlarında antimikrobiyal duyarlılık testi çalışılmamalıdır.

6.1.3. Dışkı Örneklerinin Paraziter Etkenler Açısından İncelenmesi

Dışkılar parazitler yönünden incelemeye başlanmadan önce, gerekiyorsa bakteri kültürü, *C. difficile* toksini veya virus araştırılması için örnekten bir miktar ayrılmalıdır. Bu yöntemlere yönelik önerilen akış şeması Şekil 6.5'te sunulmaktadır.



Şekil 6.5. Dışkı örneklerinin parazitolojik inceleme akış şeması

Dışkı örneğinin paraziter etkenler yönünden incelenmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en sık olarak dışkının mikroskopik olarak değerlendirilmesi kullanılmaktadır.

6.1.3.1. Dışkı örneklerinin parazitolojik etkenler açısından işlenmesi

Paraziter etkenlerin incelenmesi için dışkı örneklerinin alınması, taşınması ve saklanmasına ilişkin bilgiler Tablo 4.1'de özetlenmektedir (bkz. Bölüm 4).

Tablo 6.8'de dışkının paraziter etkenler yönünden incelenmesinde kullanılan mikrobiyolojik yöntemler ve yöntemlere göre inceleme öncesinde dışkının hazırlanması ve işlenmesi ile ilgili yapılacak işlemler topluca özetlenmektedir.

Tablo 6.8. Dışkı örneklerinin parazitler etkenler açısından işlenmesi¹

Örnek	İşlem	Önerilen Yöntemler ve Hedef Parazitler	Ek Bilgi
Taze dışkı	Makroskopi	• Dışkının kıvamı (sulu, yumuşak, şekilli) • Kan ve/veya mukus varlığı (dizanteri etkeni parazitler) • Sarımsı, kötü kokulu, sulu dışkı (sindirim bozukluğu- <i>Giardia intestinalis</i>) • Helmint erişkinleri segmentleri (<i>Taenia spp.</i> segmentleri, <i>Ascaris</i> veya <i>Enterobius</i> erişkinleri gibi)	• Sulu dışkılarda daha çok protozoon trofozoitleri, şekilli dışkılarda daha çok protozoon kistleri görülmekle birlikte, tüm dışkı formlarında coccidian protozoon ookistleri, <i>Dientamoeba fragilis</i> trofozoitleri veya helmintler bulunabilir • Özellikle patolojik kısımlardan preparat hazırlanması tanı duyarlılığını artırır
Taze ve/veya fiksatifli dışkı Diğer bağırsak örnekleri (tüm taze veya fiksatifli sigmoidoskopi materyali, duodenal içerik, direkt yaymalar, konsantrasyon yöntemi uygulanmış örnekler)	Mikroskopi	• Direkt mikroskopi (nativ-lugol): - Taze örnekler tercih edilir, fiksatifli örneklerde bu aşama atlanabilir - Protozoon trofozoitlerinin hareketleri; helmint larva ve yumurtaları; helmint yükünün belirlenmesi - Sadece direkt bakı ile belirlenebilecekler: <i>Entamoeba coli</i> kisti, <i>Giardia intestinalis</i> trofozoit ve kisti, <i>Isospora belli</i> ookisti, helmint yumurta ve larvaları, <i>Iodamoeba bütschlii</i> kisti • Konsantrasyon yöntemleri: - En sık tercih edilen formol-etil asetat çöktürme yöntemi (500xg'de 10 dk santrifüj ile) - Tüm protozoon kist ve ookistleri, helmint yumurtaları ve larvalarının yoğunlaştırılması için uygulanması gerekli yöntemler - Trofozoitler parçalanır - Baermann huni yöntemi (<i>Strongyloides spp.</i> larvaları, taze dışkı gerekli) • Boyama: - Protozoon detaylı morfolojisi, tanımlanması - Trikróm, demir hematoksisilen, klorazol siyahı * Protozoonların çoğu - Modifiye asit-fast * <i>Cryptosporidium</i>, <i>Cyclospora</i>, <i>Isospora</i> - Modifiye trikróm * <i>Microsporium spp.</i> - Uvitex 2B veya calcofluor * <i>Microsporium spp.</i>	• Direkt mikroskobide serum fizyolojik ile direkt bakı yanında, lugol gibi geçici bir boya da kullanılmalıdır. • Fazla lugol ve kalıcı boyalar helmint yumurtalarının tanınmasını zorlaştırabilir. • Helmint segmentlerinde genital organlar alkol ve ksilen ile dehidratasyondan sonra görünür hale gelebilir. • Yüzdürme yöntemlerinde 1.35'ten daha az yoğunlukta bir sıvı kullanılırsa büyük helmint yumurtaları yüzmez, daha yoğun sıvılar da morfolojiyi bozabilir. • Çok mukuslu ve sulu dışkılarda çöktürme yönteminde etil asetat kullanılmamalıdır, çünkü etil asetat örneği debris içine çekebilir ve parazitlerin bulunacağı bu kısım atılabilir. • Çoğu protozoonu tanımlayabilmek için boyama şarttır. • Dışkıda parazitler diğer hücre ve yapılar ile karıştırılabilir (bitki hücreleri, tüyleri, sebze spiralleri, nişasta kümeleri, polen taneleri, turungil sporları, maya ve maya benzeri mantarlar, hayvan tüyleri, eritrositler, lökositler, charcot-leyden kristalleri (amebiyaz ve helmintiyazlarda görülebilen eozinofil yıkım ürünleri), makrofajlar, epitel hücreleri, bitki nematodları ve kapağı açık olarak bekletilmiş dışkılarda artropod yumurta ve larvaları)

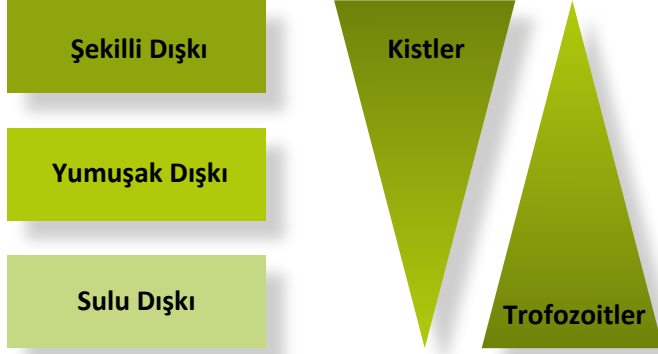
Tablo 6.8. Dışkı örneklerinin parazitler etkenler açısından işlenmesi (devam) ¹

Örnek	İşlem	Önerilen Yöntemler ve Hedef Parazitler	Ek Bilgi
Taze, dondurulmuş veya testine göre fiksatifli dışkı	Antijen saptayan immunolojik yöntemler	• ELISA, DFA ve kart testleri - <i>Entamoeba histolytica</i> / <i>Entamoeba dispar</i> grubu, <i>E. histolytica</i>, <i>G. intestinalis</i>, <i>Cryptosporidium</i> spp., kombine	• Koproantijenler, prepatent evrede ve atılımıdan bağımsız olarak saptanabilir. • Negatif çıkması az sayıda olan parazitli veya diğer olası parazit enfeksiyonlarını ekarte ettirmez. • Özellikle <i>G. intestinalis</i> enfeksiyonlarında 2 örnek incelenmesi duyarlılığı artırır
Taze, dondurulmuş veya etanol ile tespit edilmiş dışkı	Moleküler yöntemler	• Konvansiyonel yöntemlerin yetersiz olduğu durumlarda; • Morfolojik olarak ayırtılamayen parazitler için (<i>E. histolytica</i> ve <i>dispar</i> gibi) • Düşük parazit sayısı nedeni ile yüksek duyarlılığa ihtiyaç olduğu	• Formol ile tespit edilmiş örneklerde, DNA fragmentasyonuna bağlı olarak duyarlılık düşer.
Perianal sürüntü	Mikroskopi	• Selofan bant (anal bant), direkt mikroskopi • <i>Enterobius vermicularis</i> yumurta ve erişkinleri, <i>Taenia saginata</i> yumurtaları	• Negatif sonuç vermeden en az 3 tercihen 4-6 tekrar yapılmalıdır.
Bağırsak biyopsi örneği	Mikroskopi Moleküler testler	• <i>E. histolytica</i> • <i>Cryptosporidium</i> • <i>Cyclospora cayetanensis</i> • <i>Isospora belli</i> • <i>G. intestinalis</i> • <i>Microsporidium</i> spp. • Daha nadir olarak <i>Schistosoma</i> spp, çengelli solucanlar veya <i>Trichuris</i> spp.	• <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Cyclospora cayetanensis</i> ve <i>Isospora belli</i> için modifiye asit-fast boyama tercih edilir
Karaciğer ve dalak aspirat ve biyopsi örnekleri	Mikroskopi Kültür Moleküler testler	• Direkt mikroskobide <i>E. histolytica</i> trofozoitleri, Kistik <i>ekinokokoz</i> protoskoleks ve/veya çengelleri • Giemsa boyamada <i>Leishmania</i> spp. • <i>Leishmania</i> spp. tür ve genotip tanımlanması için	• Her zaman bir miktar örnek, ileri testler için ayrılmalıdır.

¹ 80 Nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

6.1.3.2. Dışkı örneklerinin makroskopik/mikroskopik değerlendirilmesi

Laboratuvara gelen klinik örnek öncelikle makroskopik olarak incelenmelidir. Dışkının kıvamından bahsederken; sıvı dışkı (akışkan kıvamda olan), yumuşak dışkı (şekilsiz) ve şekilli dışkı (katı) ifadeleri kullanılmaktadır. Örnekte bulunması muhtemel protozoon evrim şekilleri Şekil 6.6'da gösterilmiştir.



Şekil 6.6. Muhtemel protozoon evrim şekilleri



- Bağırsak parazitlerinin dışkıda aralıklı ve değişken sayıda atılması nedeni ile saptanmaları için 10 gün içinde tercihen günde bir olacak şekilde 3 defa dışkı incelemesi yapılmalıdır.
- *D. fragilis* trofozoitlerinin her üç tip dışkıda da bulunabileceği unutulmamalıdır.
- Semptomatik hastalardan alınan tüm dışkıların *Coccidian* ookistleri yönünden aside dirençli boyama yöntemi ile boyanması gerektiği bildirilmiştir.

Helmin yumurtaları da tüm dışkılarda bulunabilmektedir. Dolayısıyla yoğunlaştırma yöntemleri, parazit araştırılacak olan tüm dışkıya uygulanmalıdır. Mikroskopi için preparat hazırlanırken; örneğin, dışkının özellikle pürülan, mukuslu ve/veya kanlı kısımlarından alınması parazit saptama olasılığını arttıracaktır. Şekilli dışkılarda ise, direkt bakı (nativ-lugol), yoğunlaştırma yöntemleri ve boyalı preparat hazırlanması sırasında her defasında dışkının çeşitli yerlerinden örnek alınmalıdır. Makroskopik incelemede, kanlı ve mukuslu dışkı, *E. histolytica*'ya yönlendirebilirken; sarımsı, yağlı, kötü kokulu ve sulu dışkı *G. lamblia*'yı düşündürebilir. Ayrıca makroskopik inceleme sırasında *T. saginata* segmentleri veya *A. lumbricoides* ve *E. vermicularis* erişkinleri de dışkının üzerinde veya dışkı kabında saptanabilir.



- Dışkı örneğinin laboratuvara getiriliş zamanının uygun olmadığı düşünülüyorsa, bu durum sonuç raporunda belirtilir.
- Dışkıda bulunabilecek protozoonların şekillerini koruması ve helmintlerin daha ileri gelişiminin durdurulması için kullanılacak saklama solüsyonlarının dışkı inceleme yöntemine göre seçilmesi gereklidir.



- Protozoon trofozoitlerinin hareketlerinin gözlenmesi için;
- taze sulu dışkı örneklerinin pasajdan sonra 30 dakika,
- yumuşak dışkı örneklerinin 1 saat,
- şekilli dışkıların ise aynı gün içerisinde incelenmeye başlanması gereklidir.



NATİV-LUGOL PREPARAT HAZIRLANMASI SIRASINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKENLER

Hazırlanacak nativ-lugol preparatta dışkı yoğunluğu önemlidir. Fazla yoğun olması parazit evrim şekillerinin ayırtedilmesini engelleyebilirken, az yoğun olması da parazitlerin atlanmasına yol açabilmektedir. Nativ preparat incelemesi daha çok protozoon trofozoitlerinin hareketlerini görebilmek amacı ile yapılmaktadır. İşlemin iyi sonuç verebilmesi için örneğin zamanında incelenmeye başlanması gerekmektedir.

Bu organizmalar soluk ve ışık geçirgen olduğundan mikroskobun optik ayarları, preparata düşük yoğunlukta ışık gelecek şekilde yapılmalıdır. Şüpheli refraktil organizmalar görüldüğünde hareket için en az 15 saniye gözlenmelidir.

Nativde görülen parazit evrim şekillerinin iç yapılarını belirgin hale getirmek için pek çok iyodin solüsyonu uygulanmaktadır. Lugol veya D'Antoni iyodin solüsyonu en çok kullanılanlardır. Koyu çay renginden daha koyu olması trofozoit, kist ve yumurtaların iç yapılarının çok koyu boyanıp tanınmaz hale gelmesine neden olabilmektedir. Kullanılan solüsyonlar kahverengi kapaklı şişelerde tutulmalı ve renkleri açıldığında stok solüsyonu ile yenilenmelidir.



- Helminth yumurta ve larvaları, protozoon kistleri ve *coccidian* ookistleri nativ-lugol ve kalıcı boyama yöntemleri ile görülebilir, ancak yoğunlaştırma yöntemlerinden sonra saptanma olasılıkları daha fazladır.
- Nativ bakılırken mikroskobun optik ayarları uygun bir şekilde yapılmalıdır. Nativ preparat incelenirken tüm lamel altı incelenmelidir.



KONSANTRASYON YÖNTEMLERİNDE DİKKAT EDİLMESİ GEREKENLER

Yoğunlaştırma yöntemleri, çöktürme ve yüzdürme esaslı yöntemler olarak iki şekilde yapılmaktadır. Eğer klinik laboratuvarında bu yöntemlerden sadece biri kullanılacaksa, yüzdürme yöntemine göre daha fazla debris kalmasına rağmen, çöktürme yöntemi kullanılmalıdır. Kapaklı yumurtalar veya fertilize olmayan *Ascaris* yumurtaları gibi büyük yumurtalar yüzdürme uygulandığında dipteki çökeltide kalabilirler.

Çöktürme ile yoğunlaştırma yöntemlerinde, güvenlik nedeni ile formol-eter yerine formol-etil asetat yöntemi kullanılmalıdır. İşlemler, iyi havalandırılan ortamlarda ve çıplak alevden uzakta yapılmalıdır.

Çöktürme ile yoğunlaştırma yöntemleri arasında tavsiye edilen yöntem formol-etil asetat yöntemidir. Çöktürme yöntemi için yarım çay kaşığı kadar (yaklaşık 3-4 g) dışkı yeterlidir. Çöktürme işleminde santrifüj basamağı, 500 x g'de 10 dakika olarak uygulanır. Daha düşük santrifüj hızlarında *Cryptosporidium* spp. ookistleri saptanamayabilir. Ancak devir arttırılarak zaman azaltılabilir (1100 x g'de 3 dakika).



- Yoğunlaştırma yöntemi olarak yüzdürme yöntemi kullanılıyorsa, tüm parazitlerin tüm evrim şekillerinin yüzmeyebileceği, bazılarının çökebileceği unutulmamalı ve çökelti de mutlaka incelenmelidir.



- Parazitleri çöktürmeden sonra sağlıklı bir şekilde elde edebilmek için öneriler:
 - dışkı-formalin karışımının süzülmesi,
 - yağ ve debris uzaklaştırmak için etil asetat ve tritonX gibi çözücülerin kullanılması
 - santrifüj işleminin doğru sürede ve devirde yapılması



- Ticari konsantrasyon kitlerindeki süzgeç por çapları değişebilmektedir. Bu durum hem debris miktarını hem de parazit evrelerinin süzgeçten geçişini etkilemektedir. Bu kitler kullanılmadan önce laboratuvar tarafından denenmelidir.

Dışkının inceleme yöntemine göre kullanılacak saklama ve tespit solüsyonları Tablo 6.12'de gösterilmiştir. Yine boyaların belirli fiksatiflerle daha iyi sonuç verdikleri akılda bulundurulmalıdır. Örneğin Trikrom boya, Shaudinn veya PVA fiksatifleri ile daha iyi sonuç verirken, Klorazol siyahı ise SAF fiksatifi ile uyumludur.



KALICI BOYALI PREPERATLARIN HAZIRLANMASI VE İNCELENMESİNDE DİKKAT EDİLECEKLER

Gerek nativ-lugol preparat incelenmesinde gerekse yoğunlaştırma yöntemlerinden sonra kalıcı boyama yöntemleri ile özellikle protozoonların morfolojik özelliklerin detaylandırılması ve sonuçların doğrulanması gerekmektedir.

- Kalıcı boyalı preparat hazırlanırken, Schaudinn fiksatifi dışındakilerle tespit edilen dışkı preparatları tespiti başlamadan önce tamamen kurumuş olmalıdır.
- Kalıcı boyalı preparata bakılırken mikroskopun optik ayarları uygun bir şekilde yapılmalı ve immersiyon objektifi ile 200-300 alan taranmalıdır.
- *Coccidian* protozoonların aranması için, uygun zenginleştirme yöntemini takiben yapılacak olan modifiye asit-fast boyama ile hazırlanan preparatın incelenmesi gereklidir. Modifiye asit-fast boyama yöntemi, dışkı dışında, duodenal aspirat, safra, bronkoalveoler lavaj sıvısı gibi klinik örnekleri boyamak için de kullanılabilir.



SELEFON BANT (ANAL BANT) İLE İLGİLİ BİLİNMESİ GEREKENLER

- Selofan bant (anal bant) yöntemi ile hazırlanan preparat direkt olarak mikroskobta incelenebileceği gibi, inceleme öncesinde selofan bant kaldırılarak ortaya bir damla immersiyon yağı veya gliserol damlatılması ile bantın saydamlığı da artırılabilir.
- Eğer perianal örnek, *E. vermicularis* yumurtalarının görüntülenebilmesi için eküvyon ile gelmiş ise tüp içine fizyolojik tuzlu su eklendikten sonra 800 x g'de 2 dakika santrifüj edilmeli ve daha sonra mikroskobik olarak incelenmelidir.
- *Strongyloides stercoralis* larvalarının dışkıda yoğunlaştırılması amacı ile Baermann huni yöntemi kullanılabilir. Bu yöntem ile saptanamayacak kadar az sayıda olan hafif *Strongyloides* enfeksiyonlarının saptanması için çengelli solucan larvalarının tanımlanması ve ayrımlarının yapılması amacıyla larval evre nematodlarının kültürü yapılabilir. Bu kültür yöntemleri arasında Harada Mori tüpte filtre kağıdı yöntemi; petri kabında eğik filtre kağıdı yöntemi, Agar plak yöntemi gibi uygulanması kolay yöntemler sayılabilir.
- Özellikle *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, çengelli solucan ve *Schistosoma* enfeksiyonlarında enfeksiyonun şiddetini hastadaki helmint yükü belirlemektedir. Helmint yükü, 24 saatlik dışkı örneğinde toplam yumurta miktarı belirlenerek hesaplanabilir. Kato-Katz kalın yayma ile dışkı inceleme yöntemi bunun için kullanılan yöntemlerden biridir.

Dışkı örneklerinin parazitolojik incelemelerinde en sık kullanılan saklama ve taşıma solüsyonları ile kullanım avantaj ve dezavantajları Tablo 6.9'da özetlenmektedir.

Tablo 6.9. Dışkı örnekleri için parazitolojik incelemelerde sık kullanılan saklama ve taşıma solüsyonları

Saklama solüsyonu	Avantajlar	Dezavantajlar
%10 Formalin	Kolay hazırlanır Uzun raf ömrü Helmint yumurtası, larva, protozoon kistleri, ve coccidian yapılarını iyi korur Yoğunlaştırma yöntemleri ve floresans mikroskopi için Asit-fast, safranin ve kromotrop boyaları için Bazı antijen kitleri ile kullanılabilir	Trikrom boyamada iyi sonuç vermez Protozoon trofozoitlerinin yapılarını iyi korumaz Özellikle uzun süre maruziyette PCR sonucunu etkiler
MIF (merthiolate-iodine-formaldehyde)	Tespit ve boyamada kullanılır Kolay hazırlanır Uzun raf ömrü Saha çalışmasında kullanışlı Yoğunlaştırma yöntemleri için uygun	Trikrom boyama ile iyi sonuç vermez Protozoon trofozoitlerini çok iyi korumaz İçindeki iyodin; diğer boyalar ve floresansı kötü etkileyebilir iyodin protozoonların yapısını bozabilir
PVA (düşük yoğunluklu polivinyl-alcohol)	Protozoon trofozoit ve kistlerini iyi korur Trikrom boyama için uygun Tespit edilen dışkı aylarca saklanabilir	Helmint yumurta, larvası ve coccidia'yı iyi korumaz Civa klorür içerir Yoğunlaştırma yöntemleri için uygun değildir Antijen kitleri ile kullanılamaz Asit-fast, safranin and kromotrop boyalarla uyumsuzdur
SAF (sodium acetate-acetic acid-formalin)	Yoğunlaştırma ve kalıcı boyama için uygundur Kolay hazırlanır Uzun raf ömrü Asit-fast, safranin, and kromotrop boyamalar ile uygundur immunoassay kitleri ile uyumlu	Örneğin lama yapışması için albumin-gliserin eklenmesi gereklidir Trikrom boyamada PVA veya Schaudinn solüsyonları kadar iyi sonuç vermez. Klorazol siyahı boyama tercih edilmelidir
Schaudinn Fiksatif	Protozoon trofozoit ve kistleri iyi korunur Trikrom boyama için uygundur	Yoğunlaştırma yöntemleri için daha az uygundur Civa klorür içerir Helmint yumurta, larvaları ve coccidialar iyi korunmaz Sıvı ve mukoid örnekler lama iyi yapışmaz
Tek fiksatifli kaplar	Yoğunlaştırma ve kalıcı boyama ile uyumludur Çoğu immunoassayler ile beraber kullanılır Civa klorür içermez	Bazıları sadece bazı boyalarla iyi sonuç verir Bazı boya renklerinde değişikliğe neden olur Her zaman homojen boyanmaz

6.1.3.3. Dışkıda antijen tespiti

Dışkıda parazit antijenlerini saptamaya yönelik çeşitli immunolojik testler kullanılmaktadır. Bu testlerin bildirilen duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 6.10'da özetlenmiştir.

Tablo 6.10. Dışkıda parazit antijenlerini saptamaya yönelik immunolojik testlerin bildirilen duyarlılık ve özgüllükleri

Parazit	Tanı Yöntemi	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
<i>E. histolytica</i>	ELISA	95-100	95-100
<i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i>	ELISA	90	97
<i>G. intestinalis</i>	ELISA	96-99	100
	DFA	91-100	100
	Kart test	81	100
<i>Cryptosporidium</i> spp.	ELISA	93-99	100
	DFA	99-100	100
	Kart test	67	97

6.1.3.4. Parazitolojik inceleme sonuçlarının raporlanması

- Tüm sonuçlar tanı konulduktan sonra en kısa sürede Tıbbi Mikrobiyoloji/Tıbbi Parazitoloji Uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve onaylanmalıdır.

- Rapor klinisyene yönelik hazırlanmalı, raporlama sırasında mutlaka saptanan parazitin cins ve saptanabiliyorsa tür ismi belirtilmeli ve görülen evrim şekli de eklenmelidir. Kantitatif olarak belirtilmesi enfeksiyon prognozu ve tedavisinin belirlenmesi için gerekli olan parazitlerde raporda miktar belirtilerek klinisyen yönlendirilmelidir.

Örnek: *G. intestinalis* trofozoiti

- Saptanan insana ait hücreler bildirilmelidir (örnek: orta düzeyde lökosit, bol eritrosit, az makrofaj, nadir Charcot-Leyden kristalleri).

- Eğer dışkının taze olduğu ve incelemeden önce çok beklemediği biliniyorsa, maya hücreleri sayısal olarak bildirilmelidir (örnek: orta düzeyde tomurcuklanan maya hücreleri, nadir pseudohif gibi).

- Parazitlerin, hücrelerin, maya hücrelerinin ve artefaktların sayısal olarak belirtilmesinde aşağıdaki kriterler göz önüne alınmalıdır:

Az = her 10 immersiyon alanında en az 2 adet

Orta = her 10 immersiyon alanında 3-9 adet

Bol = her 10 immersiyon alanında 10 adet veya üzerinde

- Pozitif kalıcı preparatlar pozitif kontrol olarak saklanmalıdır. Gerekli bilgiler lam üzerine yazılmalı ve bir arşivleme sistemi kurulmalıdır.

- Laboratuvardan bildirimi zorunlu olan D grubu paraziter etkenler (*E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. ve *Trichinella spiralis*) ilgili formlarla İl Sağlık Müdürlüğü'ne usulüne uygun olarak bildirilmelidir. Bildirimi zorunlu olmayan bir parazit hastalığı da olsa salgın şüphesi olduğunda yine İl Sağlık Müdürlüğü bilgilendirilmelidir (bkz. Tablo 7.1).

- Uygulanan laboratuvar işlemlerinin içeriği, rutin uygulanan yöntemler ile atlanabilecek parazitler hakkında klinisyen bilgilendirilmelidir.

- Bunun dışında klinik örnek, laboratuvara ulaştığında bulunan olumsuzluklar da not olarak rapora yazılabilir.

Örnek: “Dışkı laboratuvara getirildiğinde kenarları kurumuştur”

- *E. histolytica* tanısı sadece boyama yaparak konuyorsa, sadece morfolojik özellikleri ile patojen *E. histolytica* ve patojen olmayan *E. dispar* ayırlamadığı için ikisi beraber rapor edilmelidir. Sadece immunolojik veya moleküler yöntemler kullanılıyorsa kesin raporlama yapılabilir.

Örnek: *E. histolytica* / *E. dispar* trofozoitleri

- Eğer özel yöntemleri gerektiren parazitler (*D. fragilis*, *Cryptosporidium* spp.) de araştırılmış ve sadece patojen olmayan türler saptanmışsa; cins ve tür ismi ve evrim şekli belirtildikten sonra ek olarak; “patojen kabul edilmemektedir, tedaviye gerek yoktur ancak hastanın dışkı ile kontamine olmuş yiyecek ya da içecek tükettiğini gösterir” yorumu eklenebilir. Sindirim sisteminde yaygın olarak bulunan ve patojen olmayan intestinal protozoonlar esas olarak fekal-oral kontaminasyonun göstergesidir.

- Tartışmalı olmakla birlikte *Blastocystis* spp. için rapor yazılırken; “Az”, “orta”, “çok” gibi ifadeler ile semikantitasyon yapılmalı veya “400 x büyütme alanında >5” gibi ifadelerle yer verilmelidir. Ek olarak, “Patojen olarak kabul edilmeden önce diğer diyare etkenleri ekarte edilmelidir” yorumu eklenebilir.

- Eğer acil direkt mikroskopi sonucu gerekiyorsa, telefonla bilgi verilebilir. Nativ-lugol bakı sonucu, ilk olarak verilebilir; kesin sonuç konsantrasyon ve kalıcı boyama yöntemlerinden sonra verilmelidir. Normalde yazılı sonuç, 16 – 72 saat içinde verilmelidir. Eğer gerekiyorsa tamamlanamayan tanısal işlemler için sonradan ikinci bir raporun verilebileceği belirtilir.

- İnflamatuvar bağırsak hastalığı olduğu bilinen bir hastanın dışkısında *E. histolytica* saptanması önemlidir.

6.1.4. Dışkı Örneklerinin Viral Etkenler Açısından İncelenmesi

Akut gastroenterit etkeni viruslar 0-5 yaş grubu çocuklarda öncelikle rotavirus olmak üzere norovirus, enterik adenovirus ve astroviruslardır. Erişkinlerde görülen sporadik akut gastroenteritlerin en yaygın sebebi, noroviruslar olup nadiren rotavirus, adenovirus veya astroviruslar etkindir. Viral etkenlere yönelik dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve işlenmesine ait özellikler Tablo 6.11’de özetlenmektedir.

Tablo 6.11. Viral etkenlere yönelik dışkı ve rektal sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, örneklerin hazırlanması, kabul/ ret ölçütleri

Örnek Türü	Dışkı örneği / Rektal sürüntü ¹
Örnek alma zamanı	Hastalık belirtilerinin başlamasından sonra en kısa sürede, ilk 48-72 saatte alınmalıdır.
Örnek alma özelliği	- Sızdırmaz kapaklı, spatulalı, plastik kaba 2-4 g dışkı veya 10mL sulu dışkı örneği alınmalıdır. - Salgınlarda en az 3 örnek alınmalıdır.
Transport Özellikleri	- Dışkı kapları kilitli plastik poşetlere konur ve buz paketleri ile birlikte en geç 48 saat içinde +4°C’de laboratuvara gönderilir - Gecikme olursa -70°C’de kuru buzda gönderilir.
Saklama koşulları	- Örnekler alındıktan sonra antijen testi yapılana dek bir kaç gün +4°C’de saklanabilir. - PCR için dışkı örnekleri test edilene kadar -20°C veya -70°C’ye konulmalıdır.
Örneklerin hazırlanması	- Antijen testleri için dışkı örneği kit içindeki dilüent ile protokole göre süspanse edilmelidir. - Moleküler testler için dışkı örneği %10 PBS ile dilüe edilip 5 dk vortekslenir ve 10.000 g’de 10 dakika (veya 8000 rpm’de 15 dakika) santrifüj edilir. Üstteki sıvıdan viral RNA ekstraksiyonu yapılır. - Rektal sürüntü ¹ örneği 3 mL PBS içine konur ve santrifüj edilip üst sıvıdan RNA ekstraksiyonu yapılır.
Viroloji laboratuvarı örnek kabul ve ret ölçütleri	- Dışkı örneğine idrar karışmamalıdır, tuvalet kağıdı parçası içermemelidir. - Örnek kabından sızma olmamalıdır. - Örnek kapları etiketli olmalıdır. Hasta adı, yaşı ve örnek toplanma tarihi belirtilmelidir. - Laboratuvar istek formu olmalıdır. - Taşıma sırasında soğuk zincir kurallarına uyulmalıdır.

¹ Rektal sürüntü örnekleri yetersiz miktarda virus içerdiğinden ilave örnek olarak alınabilir ve PCR testi ile çalışılmalıdır. Eküvyon anal sfinkterden 1-2 cm ilerletilir ve anal kriptlerde rotasyon yaptırıldıktan sonra geri çekilir. Dakron, rayon veya “flocked” eküvyon ile alınan örnek 3 mL PBS içine konur.



Yeni doğan bebeklerden dışkı örneği alınmasında dışkının beze absorbe olmaması için bebek bezi ters bağlanıp plastik dış yüzeyinin iç kısma gelmesi sağlanır ve spatula ile örnek alınır.

6.1.4.1. Dışkı örneklerinin viral etkenler açısından incelenmesinde kullanılan yöntemler

Dışkı örneklerinde viral etkenlerin saptanması için başta ELISA ve NAAT olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılabilir. Viral gastroenteritlerin tanısında kullanılan testlerin özellikleri Tablo 6.12’de, bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 6.13’te özetlenmektedir.

Tablo 6.12. Viral gastroenteritlerin tanısında kullanılan testlerin özellikleri

Test adı	Testin özelliği, avantaj ve dezavantajı
İmmüno-kromatografik test	Striplerin kullanıldığı viral antijen testleridir. Kullanımı basit, hızlı ve ucuzdur. Tek vakaların çalışılması için uygundur. Duyarlılığı lateks agglütinasyon testine göre yüksek, ELISA testine benzer veya biraz düşüktür. Negatif sonuçlar PCR ile doğrulanmalıdır.
ELISA	Antijen testidir. Tek vakaların tanısı için önerilmez. Rutin tanı ve tarama için standart test olup çok sayıda örnek çalışılabilir. PCR testine göre duyarlılığı düşüktür, özgüllüğü ise benzerdir. Salgınlarda uygun tanı testidir, ancak negatif sonuç RT-PCR ile doğrulanmalıdır.
Lateks agglütinasyon testi	Antijen testidir. Duyarlılığının ELISA testinden oldukça düşük olması dezavantajdır. Tarama testi olarak kullanımı önerilmez.
PCR	Enterik viruslar için altın standart kabul edilir. Multipleks PCR testleri mevcuttur.
Real-time PCR	Konvansiyonel RT-PCR’a göre 1-4 log daha duyarlı olduğu bildirilmiştir.
Genotipleme	Epidemiyolojik amaçlar için norovirus genogrup tespiti konvansiyonel RT-PCR ürünlerinin dizi analizi ile, rotavirus G ve P genotiplerinin tanısı ise konsensus PCR sonrası genotip spesifik multipleks PCR testleri ve dizi analizi kullanılarak referans laboratuvarında yapılır.

Tablo 6.13. Viral gastroenterit tanısı için testlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Test	Süre	Hedef virüs	Test adı	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
İmmüno-kromatografik test	15-20 dk	Norovirus Rotavirus Adenovirus	RIDA®QUICK	61.4-83.3	87.5-100
			SD Bioline	54-62	67-98.6
			RIDA®QUICK	88.8	100
			CombiStrip (Coris)	76.5	68
			Dipstick Eiken	95.8	93.3
			ROTAstrip (Coris)	99	96
			RIDA®QUICK	28.6	100
ELISA antijen testi	1-3 saat	Norovirus Rotavirus Astrovirus Adenovirus	IDEIA Norovirus	58.9-78.9	93.9-100
			RIDASCREEN (R-Biopharm)	40-78.3	83.3-97
			RIDASCREEN IDEIA (Dako)	82.1	100
			Premier Rotaclone	96	99
			VIDAS (bioMerieux)	98.1	97.5
			RIDASCREEN	76.8	100
			Novitec	100	93-100
Lateks aglütinasyon testi	2-5 dk	Rotavirus Adenovirus	Slidex (bioMerieux)	85.7	100
			MUREX (Abbott)	68	99
			Pastorex (Biorad)	85.9	97.7
			Adenolex	46	99
PCR testi	1-2 gün	Norovirus	Argene	92.8	100
			Cepheid	91.2	100
Real-time PCR testi	1-2 gün	Rotavirus	Seeplex	100	100
		Adenovirus	Seeplex	97	99.4
		Norovirus	Seeplex	100	100

SIK KARŞILAŞILAN GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ENFEKSİYONLARINA NEDEN OLAN VİRAL ETKENLER İLE İLGİLİ BİLİNMEŞİ GEREKENLER

NOROVİRUS

• Noroviruslar bütün dünyada epidemik viral gastroenteritin major sebebidir. Noroviruslar erişkinlerde görülen sporadik akut gastroenteritlerin birinci sebebi, infantil gastroenteritin ise rotavirustan sonra ikinci sebebidir.

• En çok kontamine yiyecek ve su kaynaklı gastroenterite sebep olur. Noroviruslar nonbakteriyel gastroenterit salgınlarının yaklaşık %86-100'ünden sorumludur.

• Noroviruslar son derece bulaşıcıdır, enfektif doz düşük olup 10 (<100) kadar az virus partikülü gastroenterit oluşturmak için yeterlidir. Noroviruslar başlıca fekal-oral yolla bulaşır. Kontamine yiyecek ve su ile veya kişiden kişiye direk bulaşabilir. Çevre ve eşya kontaminasyonu da enfeksiyon kaynağı olabilir. Kusmadan kaynaklanan aerosol damlacıkların oral mukozaya girmeleri ve yutulmaları da diğer bir bulaşma yoludur. Hasta kişi semptomlar iyileştikten sonra en az 48-72 saat süreyle enfeksiyöz kalır.

- Norovirus gastroenteriti genellikle aniden başlar, belirtiler kusma, bulantı, sulu diare ve abdominal kramptir. Bazı hastalarda sadece kusma görülebilir Bazı hastalarda düşük ateş (%50), abdominal kramp, baş ağrısı, kas ağrısı ve yorgunluk hissi oluşur. Erişkinlerde diare oysa çocuklarda kusma daha yaygındır. İnkübasyon periyodu genellikle kısa 12-48 saattir.

- Dışkıda mukus, kan veya lökosit bulunmaz.

- Norovirus enfeksiyonları bütün yıl boyunca görülmesine rağmen kış aylarında insidansı artar. Çocuklardan çok erişkinleri tutar. Norovirus gastroenterit salgınları tipik olarak kreş, okul, restoran, otel, yaz kampları, hastane, yaşlıların bakım evleri, yolcu gemileri, yurt ve kamp gibi çeşitli yerlerde görülür. Salgınlarda norovirus enfeksiyonlarının %30'a varan kadarının asemptomatik seyrettiği gösterilmiştir. Genel toplumda sağlıklı kişilerde asemptomatik enfeksiyon prevalansı %1'den azdır.

- Noroviruslar major kapsid proteini VP1 gen sırasının analizi ile 5 genogruba (GI-GV) ayrılır. İnsanları enfekte eden sadece GI, GII ve GIV genogruplarıdır. Genogrup II norovirus gastroenteritlerinin %90'ından sorumludur, bunu GI izler. Noroviruslar genetik değişikliğe uğradığından dolayı hayat boyu tekrarlayan enfeksiyonlar görülür, uzun süreli bağışıklık gelişmez.

ROTAVIRUS

- Rotavirus enfeksiyonları 5 yaşın altındaki çocuklarda her yıl yaklaşık 500.000 ölümden sorumludur ve %80'den fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülür. Gelişmiş ülkelerde ise rotavirus gastroenteriti ile ilişkili mortalite düşük olmasına rağmen morbidite yüksektir ve rotavirus hastaneye yatırılan akut gastroenteritli çocuklarda en çok izole edilen etkindir.

- Rotavirus enfeksiyonları en çok 4-24 ay arası çocuklarda görülür.

- Rotavirus enfeksiyonları genellikle endemiktir. Rotaviruslar infantil gastroenteritin başlıca sebebi olmasına rağmen kreşlerde ve hastanelerde nadiren salgınlara sebep olabilir. Hastaneye yatırılan gastroenterit vakalarının genellikle %20-60'ından rotavirusun sorumlu olduğu gösterilmiştir. Rotaviruslar nozokomial enfeksiyonlara da yol açar.

- Diğer viral gastroenteritlerdekine göre kusma ve dehidratasyon rotavirus gastroenteritinde daha ciddidir. Tekrarlayan enfeksiyonlar olabilir, bütün çocuklar 5 yaşına kadar rotavirus ile enfekte olur.

- Rotavirus son derece bulaşıcıdır ve başlıca fekal-oral yolla yayılır. Rotavirus enfeksiyonu ılıman iklimlerde tipik olarak kış mevsiminde görülür, oysa tropikal bölgelerde bütün yıl boyunca gözlenir.

ENTERİK ADENOVIRUS

- Gastroenterite en çok sebep olan enterik adenoviruslar adenovirus tip 40 ve adenovirus tip 41, F grubuna aittir. Enterik adenovirusların oluşturduğu hastalık rotavirus gastroenteritine benzer, fakat daha az ciddi ve diare daha uzun sürelidir. İnkübasyon periyodu 3-10 gün olup diğer viruslarda görülen 1-3 günlük süreden daha uzundur. Hastalık tipik olarak 5-12 gün sürer. Rotavirus enfeksiyonuna göre dehidratasyon daha az sıklıktadır.

- Enterik adenovirus enfeksiyonu en çok 2 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Adenoviruslar yeni doğan ve çocuklarda akut gastroenteritlerin %2-8'inde, hastaneye kaldırılan çocukların %4-15'inde tanınır. Hastanelerde ve kreşlerde salgınlar bildirilmiştir. Enterik adenoviruslar tip 40 ve tip 41 enfeksiyonları mevsimsel bir özellik göstermeksizin bütün yıl boyunca görülebilir.

ASTROVIRUS

- Astrovirus gastroenteriti genellikle 2 yaş altı çocuklarda görülür ve hastalık rotavirus gastroenteritine göre oldukça hafif seyirlidir. İnkübasyon süresi 1-4 gündür. En yaygın semptom sulu diaredir. Hastalık yaklaşık 4 gün sürer. Yeni doğan ve yaşlılarda gastroenterit ciddi seyredebilir.

SAPOVIRUS

• Saporovirus enfeksiyonları daha çok yeni doğan ve küçük çocuklarda görülür ve norovirus enfeksiyonlarına göre daha hafif seyreder. Daha çok sporadik görülür, nadiren salgınlara da sebep olur. Kış mevsiminde pik yapıp bütün yıl boyunca görülür.

6.1.4.2. Viral inceleme sonuçlarının raporlanması

a. Antijen testleri için;

Pozitif sonuç: “..... antijeni saptandı.”

Negatif sonuç: “.....antijeni saptanmadı.” şeklinde rapor edilir.

b. Moleküler testler için;

Pozitif sonuç: “..... DNA’sı/ RNA’sı saptandı.”

Negatif sonuç: “..... DNA’sı/ RNA’sı saptanmadı.” şeklinde rapor edilir.

Dışkı örneklerinde viral inceleme sonuçlarının raporlandırılması Tablo 6.14’te özetlenmektedir.

Tablo 6.14. Dışkı örneklerinde viral inceleme sonuçlarının raporlandırılması

Test	Negatif	Pozitif
Antijen testleri	 antijeni saptanmadı	 antijeni saptandı
Moleküler testler	 DNA’sı/ RNA’sı saptanmadı	 DNA’sı/ RNA’sı saptandı

6.1.5. Dışkı Örneklerinde Çoklu Patojen Saptayan Kombine Moleküler Testler

Son yıllarda, enfeksiyon hastalıklarına sendromik yaklaşım panelleri popülerite kazanmıştır. Bu moleküler testler şu anda rutin dışkı kültürleri ile tanımlanan mikroorganizmaları saptayabilmektedir. Bununla birlikte, rutin dışkı kültürleri daha az sayıda enteropatojeni bulabilirken, kullanılan bu hızlı moleküler tanı testlerinin *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* ve *VTEC* tanılarının iyileştirilmesini optimize etmek için tasarlandığı unutulmamalıdır. Kültür ile karşılaştırıldığında daha yüksek duyarlılığa sahip olan bu multipleks nükleik asit testlerinin bir kısmı FDA tarafından da onaylanmıştır. Özellikle gıda ve su kaynaklı salgın durumlarında etkenin hızla belirlenmesi, kontrol önlemlerinin alınması ve salgının yayılmasının engellenmesi yönünden büyük önem taşımaktadır. Antibiyotik tedavisi alan hastalarda etkenin kültürle izolasyonu mümkün olmamaktadır. Aynı zamanda immün sistemi baskılanmış bireylerde ve tanı konduğunda etkenin izolasyonun oldukça güç olduğu hemolitik üremik sendrom gibi durumlarda bu testler yarar sağlamaktadır.

Gastroenterit etkenlerinin dışkı örneklerinden saptanmasında kullanılan çoklu moleküler testler ve tespit ettikleri etkenler Tablo 6.15'te özetlenmektedir.

Tablo 6.15. Çeşitli moleküler testlerle belirlenen GİS patojenlerinin dağılımı

Test Adı	Tanımlanan Patojenler		
	Bakteri	Virüs	Parazit
Prodesse ProGastro SSCS assay (Hologic, Inc., San Diego, CA)	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Campylobacter</i> STEC		
xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel (GPP) (Luminex, ABD)	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Campylobacter</i> STEC <i>E. coli</i> O157 EPEC <i>C. difficile</i> toxin A/B <i>Vibrio cholerae</i>	Adenovirus 40/41 Rotavirus A Norovirus GI/GII	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>Entamoeba histolytica</i>
BD Max Enteric Bacterial Enteric Parasites panel Diagenode Enteric Viral panel (BD, Sparks, MD)	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> / EIEC STEC <i>stx1</i> , <i>stx2</i> genleri <i>C. difficile</i> ¹	Norovirus GI Norovirus GII Rotavirus	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. (<i>C. parvum</i> and <i>C. hominis</i>) <i>Entamoeba histolytica</i>
Verigene Enteric Pathogen Test (Luminex, ABD)	<i>Campylobacter</i> grup <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Vibrio</i> grup <i>Y. enterocolitica</i> STEC <i>stx1</i> , <i>stx2</i> genleri	Norovirus Rotavirus	
FilmArray® Gastrointestinal (GI) Panel (Biomerieux, ABD)	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i> <i>C. upsaliensis</i> <i>C. difficile</i> <i>P. shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Y. enterocolitica</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i> <i>V. cholerae</i> EAEC EPEC STEC <i>Shigella</i> / EIEC	Adenovirus 40/41 Astrovirus Rotavirus A Sapovirus Norovirus	<i>Cryptosporidium</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Giardia lamblia</i>

Tablo 6.15. Çeşitli moleküler testlerle belirlenen GİS patojenlerinin dağılımı (davam)

Test Adı	Tanımlanan Patojenler		
	Bakteri	Virüs	Parazit
GastroFinder® SMART 17 FAST (Pathofinder, Hollanda)	<i>Aeromonas</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter</i> spp. <i>C. difficile</i> toxin A/B <i>E. coli</i> O157:H7 STEC stx 1/2 genleri <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i>	Adenovirus (F40/41) Astrovirus Rotavirus (A) Norovirus (GI/GII/GIV)	<i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>
FTD Bacterial gastroenteritis FTD Viral gastroenteritis FTD Stool parasites (Fast-track Diagnostics)	<i>Campylobacter coli/jejuni /lari</i> <i>C. difficile</i> STEC <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. EIEC <i>Yersinia enterocolitica</i>	Norovirus GI Norovirus GII Astrovirus Rotavirus Adenovirus	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Giardia lamblia</i>
Allplex™ Gastrointestinal Panel Assays (SeeGene, Güney Kore)	<i>Shigella</i> spp. EIEC <i>Campylobacter</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio</i> spp. <i>C. difficile</i> toxin B <i>Aeromonas</i> spp. <i>Salmonella</i> spp. STEC stx1, stx2 genleri <i>E. coli</i> O157 EPEC ETEC EAEC <i>C. difficile</i>	Norovirus GI Norovirus GII Rotavirus Adenovirus Astrovirus Sapovirus	<i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Blastocystis hominis</i> <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i>
EntericBio (Serosep, İrlanda)	<i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> STEC <i>Yersinia</i> <i>Vibrio</i> <i>C.difficile</i> ¹	Norovirus GI Norovirus GII Rotavirus Adenovirus Astrovirus Sapovirus	<i>Cryptosporidium</i> <i>Giardia</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Blastocystis hominis</i> <i>Cyclospora cyetanensis</i>
RIDA®GENE Gastro Panel (R-Biopharm, Almanya)	<i>Salmonella</i> spp. <i>Campylobacter</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i> STEC stx1 ve stx2 genleri EPEC EAEC ETEC <i>Shigella</i> spp./ EIEC <i>C. difficile</i> tcdA/ tcdB	NorovirusGI Norovirus GII Rotavirus A Adenovirus Astrovirus Sapovirus	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Dientamoeba fragilis</i>

¹ *C. difficile* kiti ayrıca mevcuttur.

6.2. Gastrik Biyopsi Örnekleri

Gastrik biyopsi örnekleri, peptik ülser ve gastrik kanserlere yol açan *Helicobacter pylori* tanısında kullanılan başlıca örnektir. Tanıda önceleri doku biyopsisi gibi invazif yöntemler sıklıkla kullanılırken, günümüzde üre nefes testi ve dışkı antijen testi gibi daha ucuz ve invazif olmayan testler ilk planda tercih edilmektedir.

Gastrit ve duodenal ülser vakalarında incelenecek klinik örnekler Tablo 6.2’de, örneklerin alınması, taşınması ve saklanması ilişkin bilgiler Tablo 6.3’te özetlenmektedir.

6.2.1. Gastrik biyopsi örneklerinin *Helicobacter pylori* açısından incelenmesi

Gastrit ve peptik ülserin en önemli nedeni *H. pylori* olup, bu bölümde özel olarak ele alınmıştır.

H. pylori enfeksiyonunun tanısında, gastrik biyopsi örneklerinin kültürü en özgül yöntemdir. Sınırlı sayıdaki laboratuvar tarafından uygulanan bu yöntem, gerektiği durumlarda antimikrobiyal duyarlılık testlerinin yapılmasına da olanak sağlar. Endoskopik olarak alınan biyopsi örnekleri mikroskopik olarak Giemsa veya Gram boyama incelenebileceği gibi, *H. pylori* ön tanısında kullanılan üreaz testi de uygulanabilir. Ayrıca biyopsi örnekleri gastrit ve bakteri varlığı açısından histolojik olarak incelenebilir.

H. pylori tanısında kullanılan yöntemler ve örneklerin alınması Tablo 6.16’te ele alınmaktadır.

Tablo 6.16. *Helicobacter pylori*’nin laboratuvar tanısı

Tanısal yaklaşım	Optimum örnek	Örneklerin Taşınması
İNVAZİF TESTLER		
Kültür ^{1,2}	İki biyopsi antrumdan ve iki biyopsi posterior korpustan	Steril kap; oda sıcaklığı; en kısa sürede (tercihen 6 saat içinde), nemli ortamda (steril tuzlu su ile) Gecikecekse; buzdolabında saklanır
Gram/ Giemsa boyama		
Agar bazlı veya hızlı doku üreaz testleri ³	İki biyopsi antrumdan ve iki biyopsi posterior korpustan	İki biyopsi antrumdan ve iki biyopsi posterior korpustan Kapalı bir kapta; oda sıcaklığı; 2 saat
İNVAZİF OLMAYAN TESTLER		
<i>H.pylori</i> dışkı antijen testi	Dışkı	Kapalı bir kapta; oda sıcaklığı; 2 saat <72 saat: 4°C >72 saat: -20°C (2 defadan fazla dondurup çözülmez)
Üre nefes testi	“Radyoaktif işaretli nefes”	Özel toplama cihazı

¹ Uygun koşullarda gönderilen dışkı örneklerinde Gram boyama ve kültür duyarlılığı, histopatolojik incelemede olduğu gibi %95’tir.

² Kültür 6 saat içinde yapılacaksa ufak bir örnek şişesine 100 µl steril tuzlu su ilave edilerek veya Dent’s taşıma besiyeri kullanılarak nemlilik sağlanır. 6 saati geçecekse, steril bir kap içindeki biyopsi örneği 1 mL BHI buyyon ilave edilir. 48 saate kadar 4°C’de saklanır.

³ Agar bazlı ya da hızlı üreaz testlerinin duyarlılığı %90-95 olup, avantajı hızlı sonuç elde edilmesidir. Biyopsi örneği yerine mide suyu, orogastrik fırça veya “string” örnekleri kullanıldığında testin duyarlılığı daha düşüktür.



- Gastrik biyopsi örnekleri antibiyotik veya proton pompa inhibitörü tedavisine başlamadan önce alınmalıdır. Tedavi verildi ise, biyopsiden 2 hafta önce antibiyotik ve proton pompa inhibitörlerinin kesilmiş olması gerekmektedir.
- Biyopsi örnekleri %20-25 gliserol içeren buyyonda -70°C'de 6 aya kadar saklanabilir, ancak bakterinin canlılığı önemli ölçüde azalır.

6.2.1.1. Invazif testler

Mikroskopik inceleme

• Biyopsi örneğinin direkt mikroskopik incelemesinde Gram boyamada karbol fuksinin zıt boya olarak kullanılması daha iyi sonuçlar sağlar. İki biyopsi örneği incelenmesi durumunda Gram boyamanın duyarlılığı %90'ın üzerindedir. Ancak teknik deneyim gerektirir.

• Kültür sonucu negatif ve üreaz testi pozitif ise, preparat Gram veya Giemsa ile yeniden boyanarak incelenebilir.

Gastrik biyopsi kültürü

Gastrik biyopsi kültürü en özgül yöntem olup, antimikrobiyal duyalılık testlerinin yapılmasına da olanak sağlar. Tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi ve re-enfeksiyonların belirlenmesinde önemlidir. Ancak ne kültür ne de histolojik incelemenin hızlı tanıda yeri yoktur. Kültürde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirilmeleri Tablo 6.17'da ele alınmıştır.

Tablo 6.17. Gastrik biyopsinin kültürlerinde kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları

Klinik örnek	Besiyeri ¹	İnkübasyon Koşulları			Kültürlerin değerlendirilmesi	Hedef Mikroorganizma
		Sıcaklık (°C)	Atmosfer	Süre		
Gastrik biyopsi	<i>H.pylori</i> selektif besiyeri ²	35-37	Mikroaerofilik ³	7 gün	3-5 gün ⁴	<i>H.pylori</i>
	Kanlı agar	35-37	Mikroaerofilik	7 gün	4-5 gün	
	Üreaz testi endoskopi sırasında yapılmamışsa					
	Christenson's üre buyyonu	Oda ısısı	Aerop ortam	24 sa	6 saate kadar saatlik ve 24. saatte	<i>H.pylori</i>

¹ En iyi sonuç için seçici ve seçici olmayan besiyeri bir arada kullanılmalıdır. Seçici olmayan besiyeri olarak kanlı agar dışında, %10 at kanlı Columbia Blood Agar (CBA), Dent's selective agar, %7 at kanı içeren BHI agar, brucella agar ya da çikolata agar kullanılabilir

² GC seçici agar, modifiye Thayer-Martin besiyeri, Campy-CVA veya CEYE agar (%10 yumurta sarısı, %1 Vitoks, 40 mg 2,3,5 trifeniltetrazolyum klorid , sefsulodin, trimetoprim, vankomisin, amfoterisin B içeren Columbia agar)

³ %5-7 O₂ ve %5-10 CO₂, %7 N₂

⁴ Bazı suşlarda 7 gün inkübasyon gerekebilir

H.pylori'nin klindamisin, sefalosporin ve sodium deoksikolata duyarlı olduğundan, gastrik biyopsi kültürlerinde kullanılan besiyerlerine bu antimikrobiyal ajanlar eklenmemelidir.

Kültürde mantar kontaminasyonlarını engellemek için besiyerine antifungal ajan olarak sikloheksamid (100mg/L) eklenebilir. Ekipmanlar kullanım öncesi ve sonrasında temizlenir. Mümkünse kullanılan jarların otoklavlanması tavsiye edilir.

Kültürde *H. pylori* ürediği zaman, gradient strip veya MIC yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılık testi çalışmalı veya isolatlar referans laboratuvara gönderilmelidir.

Hasta biyopsi öncesi antibiyotik ya da bizmut kullandıysa üreaz testinin ve kültürün duyarlılığı azalır. Tedavi sonrası ilk 3 hafta içinde *H.pylori* üremesi yama tarzında olabilir.

Midede düşük sayıda *H.pylori* varsa ya da bakteri yama tarzında dağılım gösteriyorsa üreaz testi ile yalancı negatif sonuç elde edilebilir.

Üreaz testi

• Üreaz testi "hızlı üreaz testi" veya CLO test (*Campylobacter*-like organism test) olarak bilinen hızlı, duyarlılığı yüksek ve maliyeti düşük bir testtir. Testin pozitif olması durumunda sonuç çok hızlı elde edilebilir, ancak negatif sonuç verebilmek için üretici firmaların önerileri doğrultusunda gerekli süre mutlaka beklenmelidir. Üreaz testinin kültür ya da histolojik inceleme ile birlikte kullanılması önerilmektedir.



Histolojik inceleme, *H. pylori* saptanmasında kültür kadar duyarlıdır ve yüksek düzeyde özgüdür. Kültüre dirençli *Helicobacter* türlerinin gösterilmesinde de yararlıdır.

6.2.1.2. Invazif olmayan testler

Son yıllarda *H. pylori* tanısında invazif olmayan yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların arasında serolojik testler, üre nefes testi ve dışkı antijen testleri yer alır. Ancak günümüzde halen *H.pylori* tanısında kullanılabilecek ideal yöntem belirlenmemiştir.

Non-invazif testler, tedavi sonrası bakteri eradikasyonunun takibi açısından da önemlidir. Tedavi sonrasında tedavinin takibi için dışkı antijen testi ve üre nefes testini kullanmak daha uygundur. Üre nefes testinin duyarlılığı, dışkı antijen testinden daha yüksektir.

• Üre nefes testinde C13 işaretli üre içeren kokteyl hastaya verilir ve 15-20 dakika sonra nefeste C13 işaretli CO₂ varlığı araştırılır. Bu testin duyarlılığı %95'tir.

• Dışkı antijen testinin duyarlılığı %88-98 olup erişkin hastalarda çocuklardan daha yüksek duyarlılığa sahiptir.

• Serolojik testler son yıllarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır. ELISA testleri ile, sıklıkla IgG tipi olmakla birlikte IgA tipi antikorlar da belirlenebilir. Hastanın yaşı arttıkça yalancı pozitiflik oranları da artmaktadır. Oluşan antikorların *H.pylori* temizlendikten sonra da kanda bulunmaya devam etmesi nedeniyle, bakterinin eradikasyonunu sınırlı olarak ortaya koyabilir. Bu testler sadece son zamanlarda antimikrobiyal veya antisekretuar ilaç alan bireylerde, ülser kanaması, atrofi veya gastrik kanserli hastalarda kullanılabilir.

6.2.1.3. Moleküler tanı testleri

PCR ve gerçek zamanlı PCR testleri gastrik biyopsi, gastrik mukoza ve dışkı örneklerinden *H. pylori* tanısında kullanılır. NAAT, kültür negatif gastrik biyopsi örneklerinin araştırılmasında, özellikle klinik bulguların *H. pylori* enfeksiyonunu işaret ettiği vakalarda değerlidir. En iyi testlerde bile, gastrik doku örneklerinde saptama limiti < 100 CFU/mL düzeylerindedir. %100 duyarlılık ve özgüllükte hiçbir test yoktur, yalancı pozitiflik gözlenebilir.

6.2.2. Gastrik biyopsi sonuçlarının raporlanması

Gastrik biyopsi kültürlerinde üreyen kolonilerden Gram boyama yapıldığında kıvrık gram negatif basillerin görülmesi, oksidaz ve katalaz testlerinin pozitif olması ve üreaz testinin (genellikle dakikalar içinde) pozitif saptanması durumunda *H.pylori* sonucu verilebilir

Gastrik biyopsi sonuçlarının raporlanması ile ilgili ayrıntılar Tablo 6.18’de özetlenmektedir.

Tablo 6.18. Gastrik biyopsi sonuçlarının raporlanması

Test	Negatif Sonuç	Pozitif Sonuç
Direkt mikroskopik inceleme	<i>H. pylori</i> benzeri organizma görülmedi	<i>H. pylori</i> benzeri organizma görüldü
Kültür	<i>H. pylori</i> üremedi	<i>H. pylori</i> üredi
Üreaz testi	Negatif	Pozitif

6.3. Safra Örnekleri

Kolanjit ve kolesistit genellikle safra yolları tıkanıklığına bağlı olarak gelişen enfeksiyonlar olup, en sık etken özellikle *E. coli* olmak üzere gram negatif bakterilerdir, ancak gram pozitif bakteriler ve anaerob organizmalar da saptanabilmektedir. Safra normalde steril bir vücut sıvısı olmakla birlikte, sıklıkla bağırsak kaynaklı aerob ve anaerob bakterilerle kolonize olabilir. Bazen tanı veya tedavi amaçlı girişimler sonucunda kolonizasyon veya enfeksiyon gelişir ve bakteriyemiye ilerleyebilir. Safra kanalının kısmen tıkanığı ve safrada bakteriyel proliferasyonun geliştiği asendan kolanjit tablosunda, bakteriler aralıklı olarak kan akımına yayılabilir. Safra kanalının tamamen tıkanığı ve enfekte olduğu süpüratif kolanjit tablosunda, bakteri sürekli olarak kan akımına karışır. Enfeksiyonun tanısı safra ve kan kültürü ile konur. Rekürren piyogenik kolanjit safra parazitleri ile kronik olarak enfekte hastalarda gelişir ve gram negatif septisemi gelişebilir. Kolesistit ise safra kesesinin inflamasyonu olup, genellikle safra taşı varlığında gelişir. *C. perfringens*'in etken olduğu amfizematöz kolesistit gangren ve perforasyon tablosuna neden olabilir.

Safra kesesi ve yollarının enfeksiyonlarında alınacak klinik örnekler ve etken mikroorganizmalar Tablo 6.2'de, safra örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar Tablo 6.19'da özetlenmektedir.

Tablo 6.19. Safradan izole edilen mikroorganizmalar

Bakteri	Parazit ¹	Mantar ²
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> <i>Bacteroides</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. Anaeroplara <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Clonorchis sinensis</i> <i>Opisthorchis</i> spp. <i>Fasciola hepatica</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Microspora</i>	<i>Candida albicans</i> Diğer <i>Candida</i> türleri
¹ Safra sisteminin parazitik invazyonu, gelişmekte olan ülkelerdeki hastalarda ve immün sistemi baskılanmış bireylerde gözlenmektedir.		
² Mantar enfeksiyonları maligniteli, immünsistemi baskılanmış, diyabetik bireylerde veya diğer enfeksiyonlara bağlı antimikrobiyal tedavi alan hastalarda gelişir.		

En az 1 mL miktarında alınan safra örneği steril, sızdırmaz kapaklı örnek kabına alınarak plastik torba içine konarak örnek en kısa sürede laboratuvara gönderilir. Örneğin gönderilmesi gecikecekse buzdolabında saklanmalıdır. Örneğin laboratuvara gönderilme süresi, örnek hacmi ile yakından ilişkilidir. Büyük hacimlerdeki pürülan materyalde anaeroblar daha uzun süre canlılıklarını koruyabilirler. Safra örneklerinin hacimlerine göre optimum taşıma süreleri Tablo 6.20'de belirtilmiştir.

Tablo 6.20. Safra örneklerinin hacimlerine göre optimum taşıma süreleri

Aspire Edilen Hacim	Optimum Taşıma Süresi
<1mL	<10 dk
1mL	<30 dk
>2mL	<3 sa

6.3.1. Mikroskopik inceleme

Steril bir pipetle örnekten temiz bir lama bir damla damlatılarak hazırlanır ve Gram boyama ile incelenir. Ayrıca parazit varlığı açısından da mikroskopik olarak değerlendirilir.

6.3.2. Kültür

Safra örneği steril pipet kullanılarak uygun sıvı ve katı besiyerlerine ekilir ve değerlendirilir.

Safra tubajı ile örneklerin alınması, taşınması ve saklanması ile ilgili bilgiler Tablo 6.3'te, safra yolları enfeksiyonlarında etken mikroorganizmalar göre kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları Tablo 6.21'de özetlenmektedir.

Tablo 6.21. Safra yolları enfeksiyonlarında safra örneklerinin ekiminde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve etken mikroorganizmalar

Klinik tanı	Besiyeri	İnkübasyon Koşulları			Kültürlerin değerlendirilmesi	Hedef bakteriler
		Sıcaklık (°C)	Atmosfer koşulları	Süre		
Kolanjit Kolesistit	Kanlı agar	35-37	%5-10 CO ₂	40-48 saat	Her gün	Tüm bakteriler
	MacConkey agar	35-37	Aerop ortam	16-24 saat	>16 saat	
	Neomisinli anaerop agar	35-37	Anaerop ortam	5-14 gün ¹	5 gün	Anaeroplara
<i>Salmonella</i> taşıyıcılığı/ enfeksiyonu	Önce Mannitol selenit F sıvı besiyeri	35-37	Aerop ortam	16-24 saat		<i>Salmonella</i> türleri
	Daha sonra XLD besiyerine pasaj	35-37	Aerop ortam	16-24 saat	>16 saat	

¹ İnkübasyon 14 güne kadar uzatılabilir.

Kültür sonucunda bakteri üremesi gözlenirse identifikasyon yapılarak antimikrobiyal duyarlılık testleri çalışılır.

6.3.3. Sonuçların raporlanması

a. Mikroskopik inceleme:

Lökosit ve mikroorganizma görüldü/görülmedi.

Mikroskopi sonucu telefonla ve elektronik olarak bildirilir.

b. Kültür:

Rutinde test edilen ve klinik olarak önemli mikroorganizmalar antimikrobiyal duyarlılık sonuçları ve uygun yorumları ile birlikte rapor edilir.

Pozitif sonuç: “..... üredi” şeklinde rapor edilir.

Örnek: *Salmonella* spp. üredi.

Negatif sonuç: “.... üremedi” şeklinde rapor edilir.

Örnek: *Salmonella* spp. üremedi.

7. BİLDİRİMİ ZORUNLU GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ETKENLERİ

Ülkemizde 2004 yılında bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıklar listesi güncellenmiş ve bildirim sisteminde yer alan hastalıklar için standart vaka tanımları yapılmıştır. Sağlık Bakanlığı tarafından “Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği” (RG 30/5/2007-26537) ve bu Yönetmelikte “Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik” (RG 02/04/2011–27893) yayınlanarak güncellemeler yapılmıştır. Yayınlanan bu yönetmelikler kapsamında ülkemizde bildirim zorunlu 73 hastalık/etken yer almaktadır.

Ülkemizde bildirim artık standart vaka tanımlarına göre yapılmakta, bildirim zorunlu hastalıkların kesin tanısı için laboratuvar doğrulaması esas alınmaktadır. Şu anda A, B ve C grubu hastalıkların kesin tanısında laboratuvar dolaylı rol üstlenirken, D grubu hastalıkların bildirim doğrudan laboratuvarından yapılmaktadır. Laboratuvarlar tarafından geçerli tanının konması ve laboratuvarlararası tanı standardizasyonunun sağlanması için standart vaka tanımlarının kullanılması ve standart prosedürlerin uygulanması sözkonusudur.

Bildirimi zorunlu GİS enfeksiyonları ve etkenleri Tablo 7.1’de özetlenmektedir.

Tablo 7.1. Bildirimi zorunlu GİS enfeksiyonları ve etkenleri

Hastalık/ Etken	Bildirim grubu	Etken	Açıklama
Akut gastroenterit	A	Patojen bakteri, virüs veya parazitler	Bildirim klinisyen tarafından yapılır
Akut viral hepatitler	A	HAV, HBV, HCV, HDV, HEV	Bildirim klinisyen tarafından yapılır
Botulizm	A	<i>Clostridium botulinum</i> veya toksini	Bildirim klinisyen tarafından yapılır
Kolera ¹	A	<i>Vibrio cholerae</i>	Bildirim klinisyen tarafından yapılır
Tifo/ Paratifo ¹	A	<i>Salmonella</i> Typhi, Paratyphi A, B, C	Bildirim klinisyen tarafından yapılır
Amipli dizanteri	D	<i>Entamoeba histolytica</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
EHEC/ VTEC/ STEC enfeksiyonu	D	Enterohemorajik / Verotoksijenik/ Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Giardiyazis	D	<i>Giardia intestinalis</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Kampilobakteriyoz	D	<i>Campylobacter jejuni/ coli</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Kriptosporidiyoz	D	<i>Cryptosporidium</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Listeriyoz	D	<i>Listeria monocytogenes</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Norovirus enfeksiyonu	D	Norovirus	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Rotavirus enfeksiyonu	D	Rotavirus	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Salmonelloz	D	<i>Salmonella</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Şigelloz, basilli dizanteri	D	<i>Shigella</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Trişinoz	D	<i>Trichinella spiralis</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır
Yersiniyoz	D	<i>Yersinia</i>	Bildirim laboratuvar tarafından yapılır

¹ Kolera ve Tifo/ Paratifo bildirimleri klinisyen tarafından yapılmakla birlikte, tüm klinik örneklerden izole edilen *Vibrio cholerae* ve *Salmonella* izolatları referans laboratuvar tarafından bildirilmektedir.

2015 yılında yayınlanan “Bulaşıcı Hastalıkların İhbar ve Bildirim Sistemi Genelgesi” ile ihbar ve bildirimlerin esasları belirlenmiştir. Buna göre sağlık hizmeti veren tüm kurum ve kuruluşlar ile gerçek ve tüzel kişiler bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildiriminden sorumludur. Laboratuvarlarda D grubu bildirim zorunlu bir etken tespit edildiğinde, “Grup D Enfeksiyon Etkenleri Bildirim Fişi (Form 014-D)” doldurularak kurumun sürveyans sorumlusuna “GÜNLÜK” olarak bildirilmelidir.

“Grup D Enfeksiyon Etkenleri Bildirim Fişi (Form 014-D)” Şekil 7.1’de yer almaktadır.

(ACELE)

	T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU	Güncelleme Tarihi: 01/12/2015 Sayfa No: 1/1

FORM 014-D

GRUP D ENFEKSİYON ETKENLERİ BİLDİRİM FİŞİ

BİLDİRİM TARİHİ: / / 20....

BİLDİRİM YAPAN KURUM

BİLDİRİM YAPAN KİŞİ

İLİ:

ADI:

İLÇESİ:

SOYADI:

KURUM ADI:

ÜNVANI-BRANŞI:

HASTANIN KİMLİK BİLGİLERİ:	
Cinsiyeti	☐ E ☐ K
T.C. Kimlik No:	
Adı:	
Soyadı:	
Doğum Tarihi :	.../.../...
Mesleği:	
HASTANIN İKAMET BİLGİLERİ:	
İl:	
İlçe:	
Bucak:	
Köy:	
Mahalle:	
CSBM: (Cd. Sk. Blv. Meyd.)	
Dış Kapı No:	
İç Kapı no:	
İrtibat Telefonu	

MİKROBİYOLOJİK İNCELEMEDE SAPTANAN GRUP D ENFEKSİYON ETKENİ/HASTALIK				
A. Dışkı örneği incelemesinde izole edilen/gösterilen etken				
<i>Shigella</i>	☐ sonnei	☐ boydii	☐ flexneri	☐ dysenteriae
<i>Salmonella</i>	☐ typhi	☐ paratyphi-A	☐ Paratyphi-B	☐ paratyphi-C
	☐ O4 (B)	☐ O7 (C1)	☐ O8 (C2-C3)	☐ O9 (D1)
	☐ O9,46(D2)	☐ O3,10 (E1)	☐ O1,3,19 (E4)	☐ O13 (G)
	☐ O18(K)	☐ Diğer :		☐ tiplendirilmedi
EHEC	☐ O157:H7	☐ VT1 pozitif	☐ VT2 pozitif	
	☐ Diğer :			
<i>Campylobacter</i>	☐ jejuni	☐ coli	☐ Diğer :	
<i>Yersinia</i>	☐ pseudotuberculosis		☐ enterocolitica	
	☐ Diğer :			
Diğer	☐ <i>Listeria monocytogenes</i>		☐ <i>Entamoeba histolytica</i>	
	☐ <i>Cryptosporidium sp</i>		☐ <i>Giardia intestinalis</i>	
	☐ <i>Norovirus</i>		☐ <i>Rotavirus</i>	
B. Ürogenital sistem örneklerinde;				
☐ Chlamydia trachomatis		(Teknik: ☐ DFA/ELISA ☐ Kültür ☐ PCR/LCR)		

İMZA

Şekil 7.1. Grup D enfeksiyon etkenleri bildirim fişi (Form 014-D)

8. KAYNAKLAR

1. Ambert-Balay K, Pothier P. Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples. J Clin Virol 2013; 56: 194-8.
2. ASM. Collection, preservation and shipment of fecal specimens. In: Garcia LS (ed). Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. Washington, DC: ASM Press. 2007: 761-781.
3. Baron EJ, Thompson RB, Jr. Section II: Bacteriology. General. Specimen Collection, Transport and Processing. In: Carroll KC, Funke G (eds). Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. Washington, DC : ASM Press, 2011: 834-57.
4. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson Jr. RB, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013; 57: e22-e121.
5. Battaglioli G, Nazarian EJ, Lamson D, Musser KA, St George K. Evaluation of the RIDAQuick norovirus immunochromatographic test kit. J Clin Virol 2012;53: 262-4.
6. Bernstein DI. Rotavirus overview. Pediatr Infect Dis J 2009 ; 28 (Suppl 3): 50-3.
7. Brecher SM, Novak-Weekly SM, Nagy E. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infections: There is light at the end of the colon. Clin Infect Dis 2013; 57: 1175-1181.
8. Bruggink LD, Witlox KJ, Sameer R, Catton MG, Marshall JA. Evaluation of the RIDA(®)QUICK immunochromatographic norovirus detection assay using specimens from Australian gastroenteritis incidents. J Virol Methods 2011; 173: 121-6.
9. Bruggink LD, Catton MG, Marshall JA. Evaluation of the Bioline Standard Diagnostics SD immunochromatographic norovirus detection kit using fecal specimens from Australian gastroenteritis incidents. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;76: 147-52.
10. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 – 27893. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (son erişim tarihi:03.11.2017)
11. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Sağlık Bakanlığı Ankara. 2004. <http://www.shsm.gov.tr/public/documents/legislation/bhkp/asi/bhbs/BulHastBilSistStanSurveLabReh.pdf> (son erişim tarihi: 03.11.2017)
12. Casemore DP, Roberts C. Guidelines for screening for *Cryptosporidium* in stools: report of a joint working group. J Clin Pathol 1993; 46: 2-4.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. MMWR Recomm Rep 2011; 60 (RR-3): 1-18.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. MMWR 2012; 61: 1-101.
15. Chapter 2: Introduction to microbiology. Part II: Guidelines for the collection, transport, processing, analysis and reporting of cultures from specific specimen sources. In: Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL (eds). .Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017; 66-110.
16. Chapter 16: The Anaerobic Bacteria. In: Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL (eds). .Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017; 983-1073.
17. Charlett A, Davies AP. Comparison of diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the UK. J Med Microbiol 2011; 60: 1598-604.
18. Clark B, McKendrick M. A review of viral gastroenteritis. Curr Opin Infect Dis 2004; 17: 461-9.
19. Davis CP. Chapter 6: Normal flora. In: Baron S (ed). Medical Microbiology. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996: 125-29.
20. Dennehy PH. Viral gastroenteritis in children. Pediatr Infect Dis J 2011; 30: 63-4.

21. Dusetty P, Velázquez FR, Gutiérrez-Escolano AL, Ludert JE. Evaluation of the second generation of a commercial latex agglutination test for the detection of rotavirus antigens in fecal samples. *J Clin Virol* 2013; 57: 88-90.
22. Ertabaklar H. Dışkı örneklerinin mikroskopik incelenmesi: Kalıcı yayma boyanması (Trikrom). In: Garcia LS (ed). Çeviri baş editörleri: Başustaoğlu A, Yıldırım ŞT. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı. 3rd ed. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2014: 9.3.6.1-6.
23. European Center for Disease Prevention and Control. European surveillance of *Clostridium difficile* infections. Surveillance protocol version 2.2. Stockholm: ECDC, 2015.
24. Fischer TK, Gentsch JR. Rotavirus typing methods and algorithms. *Rev Med Virol* 2004; 14: 71-82.
25. Fletcher SM, Stark D, Harkness J, Ellis J. Enteric protozoa in the developed world: a public health perspective. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 420-49.
26. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 511-32.
27. Garcia LS. *Practical Guide to Diagnostic Parasitology*. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2009.
28. Garcia LS, Procop GW. Section VIII: Parasitology. In: Warnock DW (ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed. Washington, DC : ASM Press, 2011: 2038-2314.
29. Gautam R, Lyde F, Esona MD, Quaye O, Bowen MD. Comparison of Premier™ Rotaclone®, ProSpecT™, and RIDASCREEN® rotavirus enzyme immunoassay kits for detection of rotavirus antigen in stool specimens. *J Clin Virol* 2013; 58: 292-4.
30. Geginat G, Kaiser D, Schrempf S. Evaluation of third-generation ELISA and a rapid immunochromatographic assay for the detection of norovirus infection in fecal samples from inpatients of a German tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 733-7.
31. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, Vennema H, Sánchez-Fauquier A, Schreier E, et al. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 1349-55.
32. Gustavsson L, Westin J, Andersson LM, Lindh M. Rectal swabs can be used for diagnosis of viral gastroenteritis with a multiple real-time PCR assay. *J Clin Virol* 2011; 51: 279-82.
33. Higgins RR, Beniprashad M, Cardona M, Masney S, Low DE, Gubbay JB. Evaluation and verification of the Seeplex Diarrhea-V ACE assay for simultaneous detection of adenovirus, rotavirus, and norovirus genogroups I and II in clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3154-62.
34. Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, Nakagomi O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII.4 variants. *J Clin Virol* 2013; 56: 185-93.
35. Insulander M, Svenungsson B, Lebbad M, Karlsson L, de Jong B. A foodborne outbreak of *Cyclospora* infection in Stockholm, Sweden. *Foodborne Pathog Dis* 2010; 7: 1585-7.
36. Jerris RC, Fields PI, Nicholson MA. Fecal culture for *Campylobacter* and related organisms. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC : ASM Press, 2010: 3.8.2.1-19.
37. Kabayiza JC, Andersson ME, Welinder-Olsson C, Bergström T, Muhirwa G, Lindh M. Comparison of rectal swabs and faeces for real-time PCR detection of enteric agents in Rwandan children with gastroenteritis. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 447.
38. Kane SV, Sandborn WJ, Rufo PA, Zholudev A, Boone J, Lysterly D, et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1309-14.
39. Kele B, Lengyel G, Deak J. Comparison of an ELISA and two reverse transcription polymerase chain reaction methods for norovirus detection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 704: 475-8.
40. Khamrin P, Tran DN, Chan-it W, Thongprachum A, Okitsu S, Maneekarn N, et al. Comparison of the rapid methods for screening of group A rotavirus in stool samples. *J Trop Pediatr* 2011; 57: 375-7.
41. Khamrin P, Okame M, Thongprachum A, Nantachit N, Nishimura S, Okitsu S, et al. A single-tube multiplex PCR for rapid detection in feces of 10 viruses causing diarrhea. *J Virol Methods* 2011; 173: 390-3.
42. Kirkwood CD. Genetic and antigenic diversity of human rotaviruses: potential impact on vaccination programs. *J Infect Dis* 2010; 202 (Suppl): S43-8.
43. KLİMUD. Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberleri: Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku Örnekleri-Göz Örnekleri. KLİMUD Kaynak No: 8. Ankara, 2015.

44. KLİMUD. Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberleri: Steril Vücut Sıvıları Örnekleri. KLİMUD Kaynak No: 5. Ankara, 2015.
45. KLİMUD. Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberleri: Kan Dolaşımı Örnekleri. KLİMUD Kaynak No: 13. Ankara, 2017.
46. Lee SY, Hong JH, Lee SW, Lee M. Comparisons of latex agglutination, immunochromatography and enzyme immunoassay methods for the detection of rotavirus antigen. Korean J Lab Med 2007; 27: 437-41.
47. Lee HM, Lee S, Lee BI, Jekarl DW, Song J, Choi H, et al. Clinical Significance of Fecal Lactoferrin and Multiplex Polymerase Chain Reaction in Patients with Acute Diarrhea. Gut Liver; 2015; 636-40.
48. Limoncu ME, Ok ÜZ. Taze dışkı örneğinin toplanması, tespit edilmesi ve nakli. Parazitolojide Laboratuvar. Korkmaz M, Ok ÜZ (eds). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 23. İzmir, META Basım, 2011.
49. Martínez-Meléndez A, Camacho-Ortiz A, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Villarreal-Treviño L, Garza-González E. Current knowledge on the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. World J Gastroenterol 2017; 23: 1552-1567.
50. McIver CJ, Palombo EA, Doultree JC, Mustafa H, Marshall JA, Rawlinson WD. Detection of astrovirus gastroenteritis in children. J Virol Methods 2000; 84: 99-105.
51. Metzger-Boddien C, Kehle J. Development and evaluation of a sensitive PCR-ELISA for detection of adenoviruses in feces. Intervirology 2005; 48: 297-300.
52. Pang X, Lee B, Chui L, Preiksaitis JK, Monroe SS. Evaluation and validation of real-time reverse transcription-PCR assay using the LightCycler system for detection and quantitation of norovirus. J Clin Microbiol 2004; 42: 4679-85.
53. Plantenga MS, Shiferaw B, Keene WE, Biggs C, Terry JM, Grenz L, et al. Specimen collection and confirmation of norovirus outbreaks. Emerg Infect Dis 2011; 17: 1553-5.
54. Pombubpa K, Kittigul L. Assessment of a rapid immunochromatographic test for the diagnosis of norovirus gastroenteritis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31: 2379-83.
55. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Part VII: The Nature of Symbiotic Association. In: Prescott LM (ed). Microbiology. 4th ed. Boston: McGraw-Hill Companies Inc., 1999.
56. Public Health England. Gastroenteritis and Diarrhoea. UK Standards for Microbiology Investigations. S 7 Issue 1. PHE, 2013. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/344110/S_7i1.pdf (son erişim tarihi: 03.11.2017)
57. Public Health England. Investigations of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 30 Issue 8.1. PHE, 2014. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/343955/B_30i8.1.pdf (son erişim tarihi: 03.11.2017)
58. Public Health England. Investigation of Bile. UK Standards for Microbiology Investigations. B 15 Issue 6. PHE, 2014. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/637141/B_15i6.pdf (son erişim tarihi: 03.11.2017)
59. Public Health England. Processing of Faeces for *Clostridium difficile*. UK Standards for Microbiology Investigations. B 10 Issue 1.5. PHE, 2014. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/343912/B_10i1.5.pdf (son erişim tarihi: 03.11.2017)
60. Public Health England. Identification of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* including *Escherichia coli* O157. UK Standards for Microbiology Investigations. ID 22 Issue 4. PHE, 2015. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> (son erişim tarihi: 03.11.2017)
61. Public Health England. (2015). Investigation of gastric biopsies for *Helicobacter pylori*. UK Standards for Microbiology Investigations. B 55 Issue 6. PHE, 2015. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> (son erişim tarihi: 03.11.2017)
62. Public Health England. Investigation of specimens other than blood for parasites. UK Standards for Microbiology Investigations. B 31 Issue 5.1. PHE, 2017. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> (son erişim tarihi: 03.11.2017)
63. Rezaei M, Sohrabi A, Edalat R, Siadat SD, Gomari H, Rezaei M, et al. Molecular epidemiology of acute gastroenteritis caused by subgenus F (40, 41) enteric Adenoviruses in inpatient children. Labmedicine 2012; 43: 11-15.

64. Rohayem J, Berger S, Juretzek T, Herchenröder O, Mogel M, Poppe M, et al. A simple and rapid single-step multiplex RT-PCR to detect Norovirus, Astrovirus and Adenovirus in clinical stool samples. *J Virol Methods* 2004; 118: 49-59.
65. Rovida F, Campanini G, Sarasini A, Adzasehoun KM, Piralla A, Baldanti F. Comparison of immunologic and molecular assays for the diagnosis of gastrointestinal viral infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75: 110-1.
66. Scottish Microbiology & Virology Network, Scottish *C. difficile* Reference Service and Health Protection Scotland. Recommended protocol for testing for *Clostridium difficile* and subsequent culture. Health Protection Scotland, 2016.
67. Shimizu RY. Section 9: Parasitology. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC : ASM Press, 2010: 9.1.1-9.10.8.3.
68. Simpson R, Aliyu S, Iturriza-Gómara M, Desselberger U, Gray J. Infantile viral gastroenteritis: on the way to closing the diagnostic gap. *J Med Virol* 2003; 70: 258-62.
69. Siqueira JA, Linhares AC, Gabbay YB. Reply to the apropos "Evaluation of third-generation RIDASCREEN enzyme immunoassay for the detection of norovirus antigens in stool samples of hospitalized children in Belém, Pará, Brazil". *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73: 101-2.
70. Siqueira JA, Linhares Ada C, de Carvalho TC, Aragão GC, Oliveira Dde S, Dos Santos MC, et al. Norovirus infection in children admitted to hospital for acute gastroenteritis in Belém, Pará, Northern Brazil. *J Med Virol* 2013; 85: 737-44.
71. Stevens DL, Bryant AE, Berger A, von Eichel-Streiber C. Section II: Bacteriology. Anaerobic Bacteria. *Clostridium*. In: Carroll KC, Funke G (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed. Washington, DC : ASM Press, 2011: 834-57.
72. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 639-65.
73. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Bulaşıcı Hastalıkların Araştırılmasında Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 964. Ankara, 2014.
74. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Laboratuvar Güvenliği Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 937. Ankara, 2014.
75. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları: Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934. Ankara, 2014.
76. Tenover FC, Baron EJ, Peterson LR, Persing DH. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diag* 2011; 13: 573-582.
77. Thomas EE, Roscoe DL, Book L, Bone B, Browne L, Mah V. The utility of latex agglutination assays in the diagnosis of pediatric viral gastroenteritis. *Am J Clin Pathol*. 1994; 101: 742-6.
78. Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998-2000. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 964-9.
79. Van Gool T, Weijs R, Lommerse E, Mank TG. Triple faeces test: an effective tool for detection of intestinal parasites in routine clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 284-90.
80. Van Lieshout L, Verweij JJ. Newer diagnostic approaches to intestinal protozoa. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23: 488-93.
81. Welch H, Steenhoff AP, Chakalisa U, Arscott-Mills T, Mazhani L, Mokomane M, et al. Hospital-based surveillance for rotavirus gastroenteritis using molecular testing and immunoassay during the 2011 season in Botswana. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32: 570-2.
82. WHO. Manual of rotavirus detection and characterization methods. WHO/IVB/08.17. Geneva: WHO, 2009. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70122/1/WHO_IVB_08.17_eng.pdf (son erişim tarihi: 03.11.2017)
83. Wilhelmi I, Colomina J, Martín-Rodrigo D, Roman E, Sánchez-Fauquier A. New immunochromatographic method for rapid detection of rotaviruses in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and latex agglutination techniques. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 741-3.
84. York MK, Rodrigues-Wong P, Church DL. Fecal and other gastrointestinal cultures and toxin assays. In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC : ASM Press, 2010: 3.8.1.1-23.



www.klimud.org

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
Meşrutiyet Cad. Kültür Apt.No:38/15 Kat:7 Kızılay - Ankara / Türkiye
Tel: +90 312 230 78 18 • +90 530 693 86 67
info@klimud.org • klimud@gmail.com