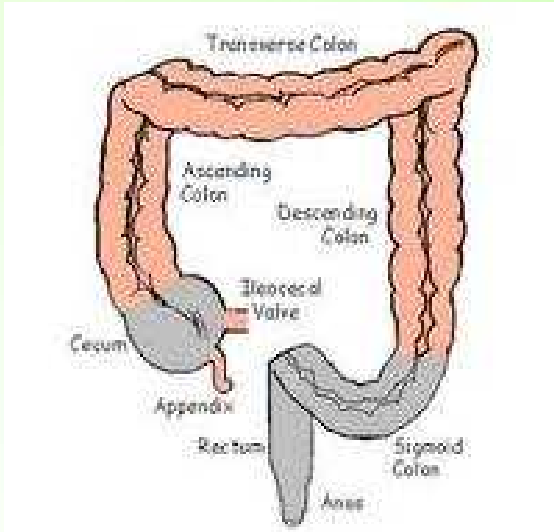


# GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ÖRNEKLERİ



*Prof. Dr. Gülşen Hasçelik*  
*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi*  
*Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*

# GASTROİNTESTİNAL SİSTEM YOLU ÖRNEKLERİ



- **Dışkı**
- **Rektal sürüntü**
- **Kusmuk**
- **Duodenal aspirasyon**
- **Kan**
- **Kemik iliği**

# OLGU 1





- 5 ya ında kız hasta
- Ani ba layan karın a rısı
- shal



- Karın ağrısının aniden bir gün önce başladığı
- 5-6 kere kanlı ishal
- Bulantı
- Kusma YOK

- Alınan öyküsünden bir hafta önce
  - Ateş, dizürü, suprapubik ve sağ böğüründe ağrı nedeniyle üriner sistem enfeksiyonu
  - Lökosit sayısı ↑
  - CRP ↑
  - Kültür: E. coli
  - iv amoxicillin - clavulanate

# Olası etkenler ne olabilir?



- I. Salmonella
- II. Shigella
- III. EHEC
- IV. EIEC
- V. Yersinia enterocolitica
- VI. Campylobacter jejuni
- VII. Clostridium difficile

- a) I, II, III
- b) II, III, IV
- c) III, IV, V
- d) I, II, III, IV, VI, VII
- e) HEPS

# Olası etkenler ne olabilir?



- I. Salmonella
- II. Shigella
- III. EHEC
- IV. EIEC
- V. Yersinia enterocolitica
- VI. Campylobacter jejuni
- VII. Clostridium difficile

- a) I, II, III
- b) II, III, IV
- c) III, IV, V
- d) I, II, III, IV, VI, VII
- e) **HEPS**

## Bakteri

## Makroskopi

## Mikroskopi

		Lökosit	Eritrosit
Campylobacter	Sulu,şekilsiz,mukuslu	+ / ++	+ / ++
Salmonella	Sulu,şekilsiz, kanlı	+	- / +
Shigella	Kanlı/mukuslu, şekilsiz	+++	++ / +++
EHEC	Kanlı,sulu	-	+++
EIEC	Kanlı,mukuslu	+++	++ / +++
ETEC	Sulu	-	-
V cholerae	Pirinç suyu	-	-
C difficile toksin	Sulu,şekilsiz,Kanlı/mukuslu	+ / +++	+ / +++







## **Bakteriyolojik inceleme:**

**Dı kı yayması**

**Dı kı kültürü**

**Dı kı yayması:**

**Eritrosit (+)**

**Nadir lökosit**

**Dı kı kültürü**

**Salmonella, shigella ve  
campylobacter üremedi**



Hasta hikayesine ve kültür sonuçlarına göre a a ıdaki bakterilerden hangisi/hangilerini ilk planda dü ünürsünüz?

- a) *Yersinia enterocolitica*
- b) *Clostridium difficile*
- c) *Staphylococcus aureus*
- d) *Clostridium perfringens*
- e) a,b,c,d
- f) b,c,d



Hasta hikayesine ve kültür sonuçlarına göre a a ıdaki bakterilerden hangisi/hangilerini ilk planda dü ünürsünüz?

- a) *Yersinşa enterocolitica*
- b) *Clostridium difficile*
- c) *Staphylococcus aureus*
- d) *Clostridium perfringens*
- e) a,b,c,d
- f) b,c,d



## Antibiyoti e ba lı diyare(AAD) etkenleri

- a) *Clostridium difficile*
- b) *Staphylococcus aureus*
- c) *Clostridium perfringens*
- d) *Candida albicans* ( $\geq 10^5$  cfu/ml)

Enterotoxin oluřturan *S. aureus* ve *C. perfringens* diyareyi indükler, primer AAD etkeni deęildir. Ancak yařlı kiřilerde, *C. difficile* (-) olduęu durumlarda etken olarak düřünülmelidir.



İlk akla gelen *C. difficile* olarak düşünülüyor. Bu durumda doktor tanı için hangi testleri istemeli?

- a) *C. difficile* toksin saptanması için hücre kültürü
- b) *C. difficile* için ELISA testi ile toksin A+B
- c) Glutamat dehidrogenaz antijen
- d) Toksin A+B PCR
- e) Hepsisi



İlk akla gelen *C. difficile* olarak düşünülüyor. Bu durumda doktor tanı için hangi testleri istemeli?

- a) *C. difficile* toksin saptanması için hücre kültürü
- b) *C. difficile* için ELISA testi ile toksin A+B
- c) Glutamat dehidrogenaz antijen
- d) Toksin A+B PCR
- e) Hepsisi

## C difficile

Antibiyoti e ba lı ishallerin %10-20si

- Toksin A/ B testi  
(EIA, membran assay, otomatize immunassay)
- Glutamat dehidrogenaz antijen (GDH)
  - Tarama
- Glutamat dehidrogenaz antijen (GDH)/Toksin
  - Membran assay
- Toksijenik kültür(Kültür + Sitotoksin) Altın standart
- PCR



**C. difficile için**

**RUTİN KÜLTÜR YAPALIM MI?**

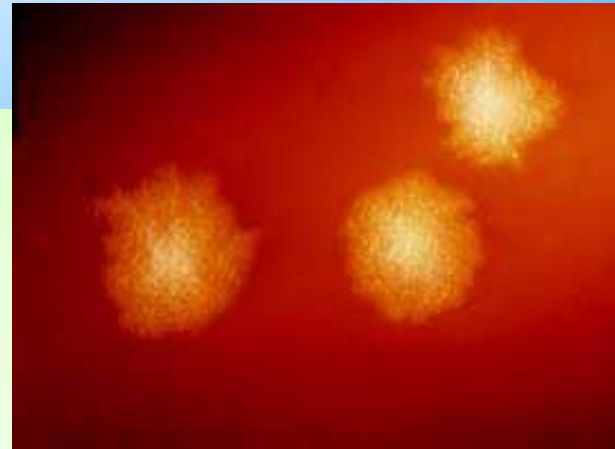
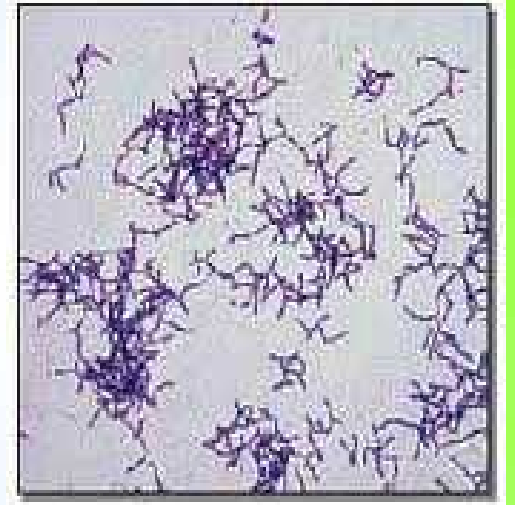




## C difficile

Rutin kültüre gerek yok .

- \* Epidemiyolojik alıřmalar için gerekli
- \* Yeni bir testin deęerlendirilmesi
- \* Salgınlarda
- \* Antibiyotik direnç sürveyansı





Ultrason: kolon duvarında kalınlaşma ve inflamasyon

Endoskopi: Kolon mukozasında hemorajik debridasyonlar görülüyor

Pseudomembran saptanmıyor



**C. difficile toksin A+B ELISA test: Negatif**  
**C. difficile toksin PCR: Negatif**

**TEKRAR DÜ ÜN !!!!**



**Bakteriyolojik inceleme:**

**Dı kı yayması**

**Dı kı kültürü**

**Dı kı yayması:**

**Eritrosit (+)**

**Nadir lökosit**

**Dı kı kültürü**

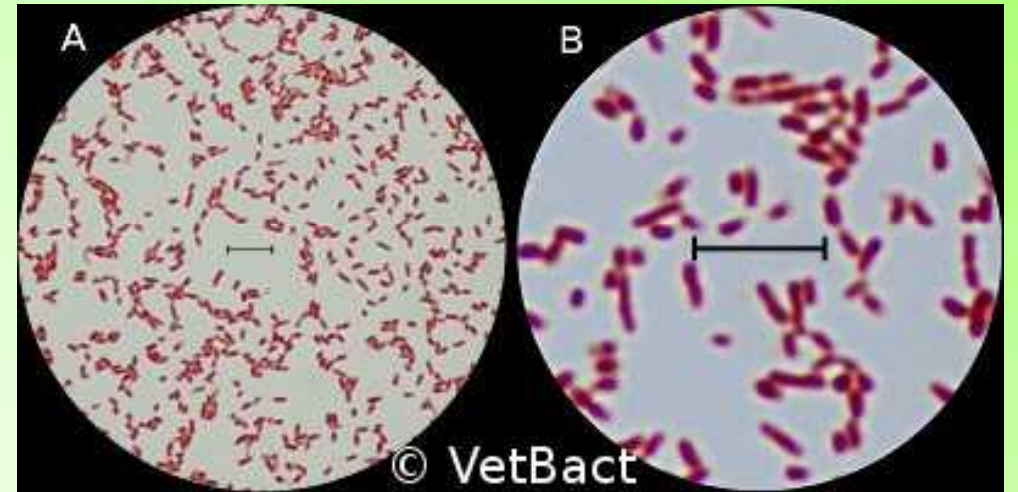
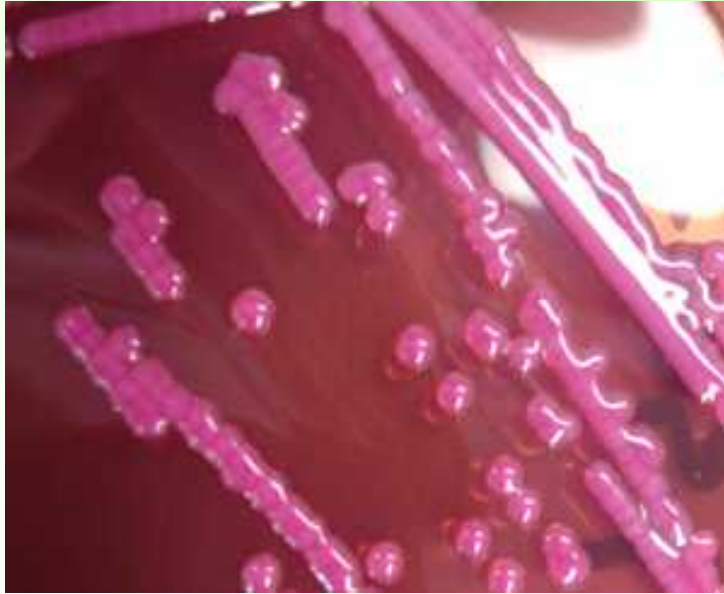
**Laktoz (+) koloniler**

Kültür incelendi inde:

Çok sayıda benzer laktoz (+)

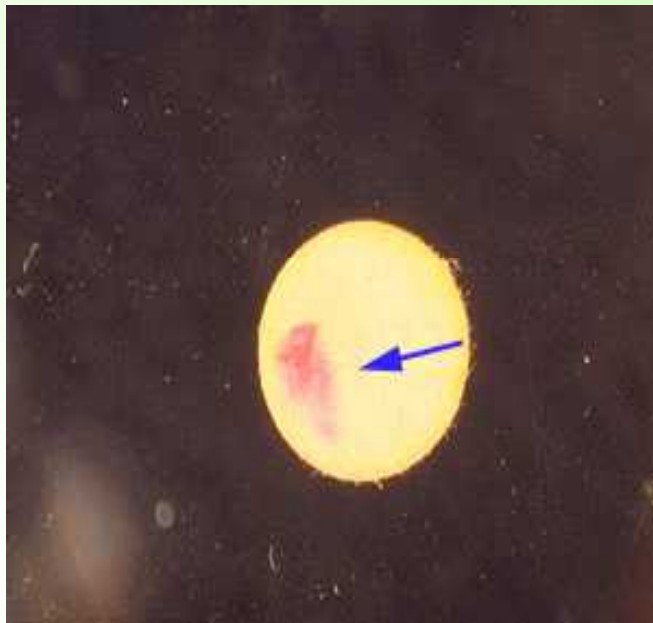
Gram negatif basil

Oksidaz (-)



Spot indol test: Pozitif

Sitrat testi : Pozitif



# A a ıda yer alan bakterilerden hangisi etken olabilir?

- a) *Enterohemorajik E.coli*
- b) *Klebsiella oxytoca*
- c) *Enteroinvazif E. coli*
- d) *Klebsiella pneumonia*
- e) *Shigella sonnei*

# A a ıda yer alan bakterilerden hangisi etken olabilir?

- a) *Enterohemorajik E.coli*
- b) *Klebsiella oxytoca*
- c) *Enteroinvazif E. coli*
- d) *Klebsiella pneumonia*
- e) *Shigella sonnei*



# *Klebsiella oxytoca*

- İlk olarak 1978 yılında Toffler tarafından tanımlanmıştır
  - Segmental antibiyotiğe bağlı hemorajik kolit
  - Penisiline bağlı hemorajik kolit
  - Sağ tarafı tutan antibiyotiğe bağlı hemorajik kolit
- ABHK genellikle penisilin tedavisinden sonra görülüyor
- *K. oxytoca* koliti özellikle sağ kolonda ve segmental olarak gözleniyor

# *Klebsiella oxytoca*

- *K. oxytoca* ba lı ishallerde hücre kültürlerinde (Hep-2 hücreleri) toksin gösterilmi ve KOCH postulatı ile ispatlanmı .
- Sitotoksinin moleküler a ırlı ı 217 dalton, ısıya duyarlı, ökaryotik DNA sentezini inhibe ediyor.
- *K. oxytoca*'ya ba lı (ABHK) ishallerde  
 $K. oxytoca > 10^6 \text{ cfu/ml}$
- *K. oxytoca* sağlıklı kişilerin dışkısında %8-10 oranında bulunuyor



# *Klebsiella oxytoca*

- 3537 hastadan 5581 dışkı örneği SCITB ve Mac Conkey besiyerine ekim
- 104(%2.9) hastadan 117(%2.1) örnekten *K.oxytoca* tanımlama
- 76 (%73.1) hastada tek patojen
- 41 hastada diğer etkenlerle birlikte
  - 9 hastada nörovirus 7 hastada *C. difficile*
  - 4 hastada *Salmonella* spp 1 hastada *Campylobacter*
  - 1 hastada *Aeromonas caviae* 4 hastada rotavirus
  - 2 hastada nörovirus ve *C. difficile*
- 24 hastada(%31.6) sitotoksin oluşumu (hepsinde antibiyotik kullanma öyküsü)



**Akut karın ağrısı**

**Kanlı ishal**

**Antibiyotik kullanımı**



***Klebsiella oxytoca***

## OLGU 2

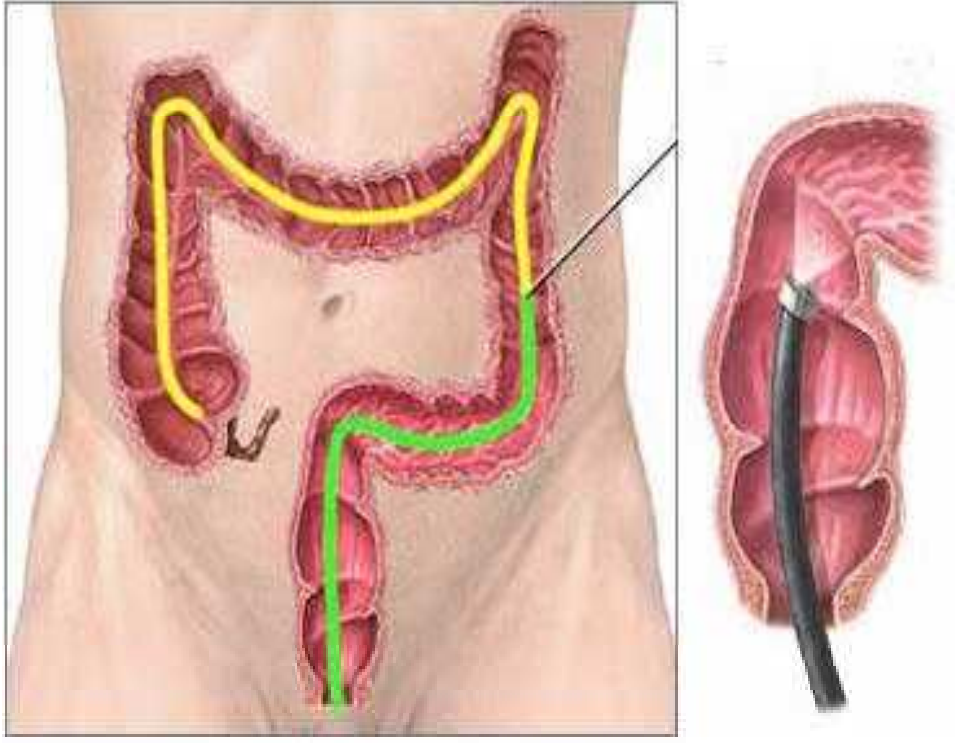




21 ya ında bayan hasta

bir haftadır **kanlı ishal**

- Yakınmaları **bir ay önce sulu ishal** ekinde ba lamı
- Yüksek ate , bulantı, kusma YOK



Sigmoidoskopi: Kolon mukozasının inflamasyon ve kronik kanama, **makroskobik kolit**

Biyopsi → Patoloji  
Histoloji





Gastroenterolog mikrobiyoloji uzmanını arayarak bu hastadan mikrobiyoloji için nasıl bir örnek alınması gerektiğini soruyor?

- a) Bu bölgeden örnek alınmaz
- b) Rektal sürüntü
- c) Dışkı kültürü
- d) Kolon yıkama sıvısı
- e) Hiçbiri



Gastroenterolog mikrobiyoloji doktorunu arayarak bu hastadan mikrobiyoloji için nasıl bir örnek alınması gerektiğini soruyor?

- a) Bu bölgeden örnek alınmaz
- b) Rektal sürüntü
- c) Dışkı kültürü
- d) Kolon yıkama sıvısı
- e) Hiçbiri



Mikrobiyolog laboratuvara gönderilecek bu örne in laboratuvara **nasıl gönderilmesi** ve **hangi besiyerlerine** ekilmesi ve **nasıl de erlendirilmesi** gerekti ini bilmedi i için kitaplara bakıyor. Klasik kitaplarda ve pubmedte bir bilgiye rastlamıyor.



Kolon yıkama sıvısı laboratuvara nasıl gönderilmeli ve hangi besiyerlerine ekilmelidir?

- a) En kısa zamanda gönderilmeli, Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- b) Stuart besiyerinde gönderilmeli, SS besiyerine ekilmeli
- c) Cary Blair besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey , SS ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- d) Stuart besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey ve SS, CCDA ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- e) Cary Blair besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey , SS, CCDA ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli



Kolon yıkama sıvısı laboratuvara nasıl gönderilmeli ve hangi besiyerlerine ekilmelidir?

- a) En kısa zamanda gönderilmeli, Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- b) Stuart besiyerinde gönderilmeli, SS besiyerine ekilmeli
- c) Cary Blair besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey , SS ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- d) Stuart besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey ve SS, CCDA ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli
- e) Cary Blair besiyerinde gönderilmeli, Mac Conkey , SS, CCDA ve Sorbitollü Mac Conkey besiyerine ekilmeli

# *Kolon yıkama sıvısı*

- Endoskopi esnasında alınan dışkı enterik bakteri kültürü olarak laboratuvarda değerlendirilmelidir (Manual of Microbiology 10th ed p 229)
- Pubmedte bilgi yok
- Örnek toplanması ve laboratuvara gönderilmede gecikme olacaksa **Cary Blair** besiyerinde gönderilmelidir.
- Hastada kanlı ishal olduğundan **Mac Conkey, SS, Campylobacter selektif besiyeri(CCDA)**, laboratuvar rutinin de olmasa da mutlaka E.coli O157H7 için **Sorbitollü Mac Conkey** kullanılmalı



# OLGU 3





30 ya ında bayan  
hasta bir aydan beri  
devam eden sulu ishal  
Kramp tarzında a rı  
Kilo kaybı





Hastaya çe itli tanı testlerinin yanında laboratuvardan **kantitatif duodenal kültür** isteniyor.

Laboratuvarda kantitatif duodenal  
kültürü nasıl yaparsanız?  
Nasıl de erlendirirsiniz ?

# Kantitatif duodenal kültür ??

Duodenal aspiratın kendisi, 0.1, 0.01 ve 0.001 ml dilüsyonları kanlı agara ekim

37 C de inkübasyon

Bakteri sayımı

Bakteri sayısı cfu/ml rapor

Referans aralık: <1000cfu/ml

Duodenuma anaerob kültür yapılmaz

# OLGU 4





25 ya ında bayan hasta 10  
saatten beri devam eden  
sulu ishal

Bulanti, kusma

Karın ağrısı

Evde karde ının ve  
annesinin de benzer  
yakınmaları mevcut

Hepsinde aynı pudingten  
yeme hikayesi



Bu durumda hastadan hangi örnekleri alarak laboratuvara gönderirsiniz?

- a) Dışkı
- b) Kusmuk
- c) Yenen besin
- d) Hepsi



Bu durumda hastadan hangi örnekleri alarak laboratuvara gönderirsiniz?

- a) Dışkı
- b) Kusmuk
- c) Yenen besin
- d) Hepsi

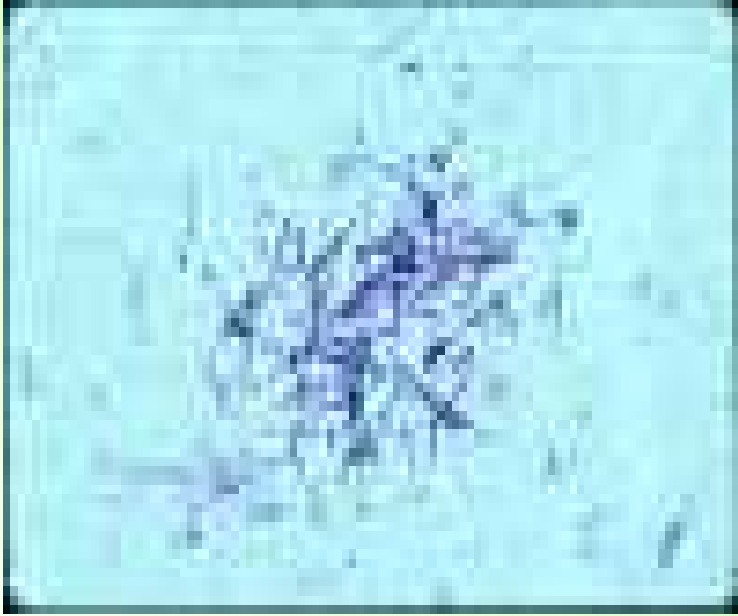


Laboratuvar gelen kusmuk,  
dı kı örne i ve yenen  
besinler(kantitatif ekim)  
a a ıda yazılı uygun  
besiyerlerine ekim:

- Kanlı
- Mac Conkey
- Salmonella Shigella agar
- Campylobacter (CCDA)

37 ve 42 °C de inkübasyon





Dı kı mikroskobisi: Gram pozitif ve negatif basil, gram pozitif kok

Pudingden yapılan mikroskobi: Gram pozitif basil

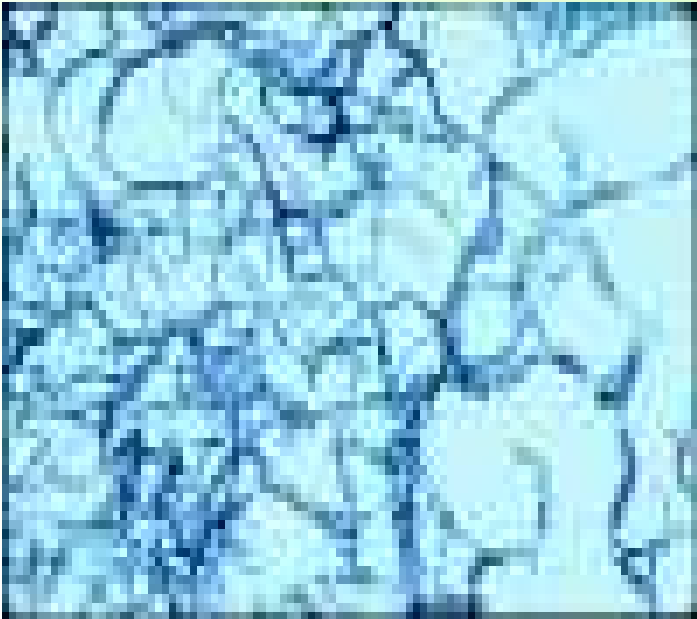


DI KI VE PUD NG:

Kanlı agar: Gri, opak,  
granüllü, yayılan koloniler

Mac Conkey ve SS: (-)

Campylobacter: (-)



Gram pozitif basil



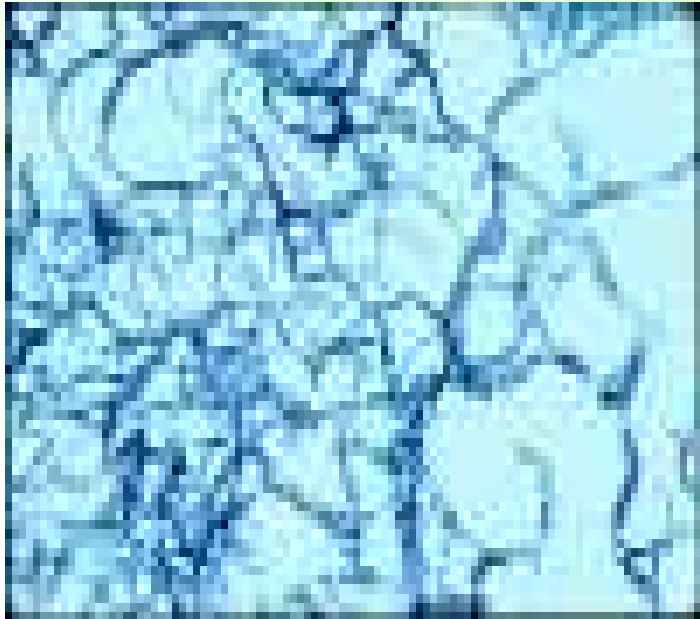
Mikroskopide gram pozitif basil olarak görülen ve kültürde üreyen bu bakteriye tanıyı nasıl koyarsınız?

- a) Hareket testi
- b) Lizozim testi
- c) Lesitinaz testi
- d) Penisilin duyarlılığı
- e) a, b, c
- f) a, c, d



Mikroskobide gram pozitif basil olarak görülen ve kültürde üreyen bu bakteriye tanıyı nasıl koyarsınız?

- a) Hareket testi
- b) Lizozim testi
- c) Lesitinaz testi
- d) Penisilin duyarlılığı
- e) a, b, c
- f) a, c, d



## Hareket (37°C)

- ✓ *Corynebacterium* , *listeria* ve *B. anthracis*'ten ayırım
- Lesitinaz
  - ✓ *Bacillus* türleri arasında ayırım
- Penisilin duyarlılığı
  - ✓ *Bacillus* türleri arasında ayırım
    - ✓ *B. anthracis* penisilin duyarlı
    - ✓ *B. cereus* dirençli



Yapılan testler sonucunda bakterinin hareketli, lesitinaz pozitif ve penisiline dirençli oldu u saptanarak *B. cereus* tanısı konuyor.

Eğer bakteri tek başına dı kıda üremi olsaydı bu durumda dı kı kültürünü nasıl de erlendirir ve nasıl rapor edersiniz?

- a) Salmonella, shigella ve campylobacter üremedi
- b) Patojen bakteri üremedi
- c) Normal flora üredi
- d) *B. cereus* üredi



Yapılan testler sonucunda bakterinin hareketli, lesitinaz pozitif ve penisiline dirençli oldu u saptanarak *B. cereus* tanısı konuyor.

Bu durumda dı kı kültürünü nasıl de erlendirir ve nasıl rapor edersiniz?

- a) Salmonella, shigella ve campylobacter üremedi
- b) Patojen bakteri üremedi
- c) Normal flora üredi
- d) *B. cereus* üredi

# Bacillus cereus

- ✓ Besin zehirlenmelerine neden olan aerobik, spor olu turan gram pozitif basil
- ✓ Suda, ve çe itli besinlerde(et, süt ve süt ürünleri, kuru yiyecekler, sebze, pirinç....)
- ✓ *B.cereus* sporları normal bir temizlikle temizlenemez, biyofilm olu turur. Biyofilm olu umu sporu ve vejetatif hücreyi sanitasyon esnasında bakterinin inaktivasyonundan korur.
- ✓ Uzun süre buzdolabında bekletilmi yiyeceklerde ya ayabilir.
- ✓  $10^5$ - $10^8$  bakteri alınmasıyla 8-16 saat sonra bulgular ba lar.  $10^3$  bakteri alınması ile de bulguların gözlendi i belirtiliyor.





# Bacillus cereus

- Patogenez:
  - ✓ Enterotoksin
  - ✓ Sitotoksin(Hb1, Nhe, Cyt K, hemolizin)
  - ✓ Enzim
- Dışkı kültüründe %14 oranında sağlıklı bireylerde izole ediliyor



# Bacillus cereus

- Patogenez:
  - ✓ Enterotoksin
  - ✓ Sitotoksin(Hb1, Nhe, Cyt K, hemolizin)
  - ✓ Enzim
- Dışkı kültüründe %14 oranında sağlıklı bireylerde izole ediliyor



# Bacillus cereus

## Kesin tanı:

- ✓ Dı kı, kusmuk ve üpheli yiyecekten aynı serotipin bulunması
- ✓ Dı kı veya kusmuk veya üpheli yiyecekte bir serotipin fazla sayıda izole edilmesi
- ✓ üpheli yiyecekten *B. cereus* izolasyonu (enterotoksin saptanması)

# Bacillus cereus RAPOR???

- CDC

- ki veya daha fazla ki inin dı kısından *B. cereus* izolasyonu, kontrollerden üretilmemesi

- Besinden  $10^5$ organizma/gr üretilmesi

- Tek ki iden *B.cereus* üremesi anlamlı de il  
(Dı kı kültüründe %14 oranında sa lıklı bireylerde izole ediliyor)

# Bacillus cereus RAPOR???

- *B. cereus*'un kültürü ve tanımlanması zaman aldı ı için ANCAK SALGIN ZAMANLARINDA VE ÖZEL STEK OLDU UNDA TANIMLANMALIDIR.

Konfirmasyon için serotiplendirme yapılmalıdır.

Halk sa lı ı laboratuvarlarında kültür, toksin çalı lmalı, antibiyotik duyarlılı ına gerek yoktur.

