





T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HASTANEDE UZUN SÜRELİ YATAN HASTALARDA  
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* KOLONİZASYONUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe DANIŞ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ

Düzce – 2017

**KABUL VE ONAY**

Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan  
**HASTANEDE UZUN SÜRELİ YATAN HASTALARDA *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*  
KOLONİZASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tarihi:** 28/02/2017

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ  
Düzce Üniversitesi  
**Başkan**

Prof. Dr. Cihadiye Elif ÖZTÜRK  
Düzce Üniversitesi

**Üye**

Prof. Dr. Erol AYAZ  
Abant İzzet Baysal Üniversitesi

**Üye**

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 10/03/2017 tarih ve 2017/71 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

28.02.2017

Ayşe DANIŞ



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve bu tezin hazırlanması sürecinde gösterdiği yardım ve katkılarından dolayı saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. İdris ŞAHİN, Prof. Dr. C. Elif ÖZTÜRK ve Yrd. Doç. Dr. Emel ÇALIŞKAN'A

İstatistik aşamasında tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali SUNGUR'A

Örneklerimin çalışılmasında yardımcı olan PCR Laboratuvarı çalışanları biyolog Ziya ERDOĞAN ve Dursun ATİK'e

Örneklerimin çalışılincaya kadar eksi 20° C derecede saklanması öncülük eden biyolog Arif KIZILIRMAK'a teşekkür ederim.

Çalışmanın örnek toplama aşamasında bana hiç zorluk çıkarmayan ve destek veren hastalarım ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	Sayfalar
ÖNSÖZ .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
KISALTMALAR .....	vi
TABLolar LİSTESİ .....	viii
ÖZET .....	1
İNGİLİZCE ÖZET .....	2
1. GİRİŞ .....	3
1.1 Amaç ve Kapsam .....	3
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Tarihçe .....	4
2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri .....	4
2.3. Epidemiyoloji .....	6
2.4. Risk Faktörleri .....	8
2.5. Patogenez .....	9
2.6. Bulaş Yolları ve Kaynakları .....	10
2.6.1. Çevresel Kontaminasyon .....	10
2.6.2. Asemptomatik Taşıyıcılar .....	11
2.6.3. Personel El Taşıyıcılığı .....	11
2.7. Yaptığı Hastalıklar .....	11
2.8. <i>Clostridium difficile</i> 'nin Laboratuvar Tanısı .....	12
2.8.1. Mikrobiyolojik İncelemeler .....	12
2.8.1.1 Mikroskopik İnceleme .....	12
2.8.1.2 Toksik Kültür .....	13
2.8.2. Toksin Aramaya Yönelik Testler .....	14
2.8.2.1 Hücre Kültürü .....	14
2.8.2.2. Antijen Arama Testleri .....	14
2.8.2.2.1 Toksin A veya Toksin A ve Toksin B Antijeni Aranması .....	14

2.8.2.2.2	Glutamat Dehidrojenaz Antijeni Aranması	15
2.8.2.2.3	İmmünokromatografik Testler	16
2.8.3.	Zıt Yönlü İmmünoelektroforez	16
2.8.4.	Flouresan Antikor Testi (FAT)	16
2.8.5.	Moleküler Yöntemler	17
2.8.5.1	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	17
2.8.6.	Diğer Testler	17
2.8.6.1	Biyokimyasal Testler	17
2.8.6.1.1	Rutin Biyokimyasal Testler	17
2.8.6.1.2.	Gaz-Likid Kromatografisi	17
2.8.6.2	Radyolojik İncelemeler	18
2.9.	Tedavi	18
2.10.	Korunma	19
2.10.1.	Bariyer Önlemleri	19
2.10.2.	Çevre Temizliği ve Dezenfeksiyon	20
2.10.3.	Asemptomatik <i>Clostridium difficile</i> Taşıyıcılarının Tanımlanması ve Tedavisi	21
2.10.4.	Hastaların, Hasta Yakınlarının ve Personelin Eğitimi	21
2.10.5.	Antimikrobiyal Kullanımının Kısıtlanması	22
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1.	Hastaların Seçimi	23
3.2.	Hasta Örneklerinin Seçimi	23
3.3.	Hasta Bilgileri	23
3.4.	İstatistik	24
3.5.	Çalışma Yöntemi	24
3.5.1.	Gereç	24
3.5.2.	Çalışma Şekli	24

4.BULGULAR .....	26
4.1. Genel Özellikleri .....	26
4.2. Risk Faktörleri .....	29
4.3. Antibiyotik Kullanma Özellikleri .....	30
4.4. Pozitif Sonuçların Değerlendirilmesi .....	30
5.TARTIŞMA .....	36
6. SONUÇLAR .....	43
7. KAYNAKLAR .....	45
8. EKLER .....	56
8.1 Etik Kurul .....	56
8.2 Özgeçmiş.....	58



## **KISALTMALAR**

PMC: Psödomembranöz enterokolit

GİS: Gastrointestinal sistem

CCFA: Sikloserin Sefoksitin Früktoz Agar

CMA: Sikloserin Mannitol Agar

CMBA: Sikloserin Mannitol Kanlı Agar

CCEY: Sikloserin Sefoksitin Egg Yolk

PNL: Polimorf nüveli lökosit

EIA: Enzim İmmünoassay

CHO: Chinese Hamster Ovary Hücreleri

FAT: Flouresan Antikor Testi

MRC 5,WI-38: İnsan Embriyonik Akciğer Fibroblast Hücreleri

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyon

FL: İnsan Amniyon Hücreleri

Hep2: İnsan Epidermoid Karsinoma Hücreleri

µm: Mikrometre

VERO: Afrika Yeşil Maymun Böbrek Hücreleri

TNF: Tümör nekroze edici faktör

CIE: Zıt Yönlü İmmünoelektroforez

GDH: Glutamat Dehidrogenez

UV: Ultraviyole

FAT: Floresan Antikor Testi

IL: İnterlökin



<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>Sayfa</b>
Tablo 1: Çalışmaya alınan hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı	26
Tablo 2: Örnek alınan hastaların servislere göre dağılımı	27
Tablo 3: Çalışmaya alınan hastaların yatış tanıları	27
Tablo 4: Hastaların altta yatan hastalıkların dağılımı	28
Tablo 5: Hastaların örnek alınma haftalarına göre dağılımı	28
Tablo 6: Risk faktörlerin dağılımı	29
Tablo 7: Saptanan risk faktörlerinin sayısal dağılımı	29
Tablo 8: Çalışmaya alınan hastaların kullandıkları antibiyotiklerin dağılımı	30
Tablo 9: Pozitif ve negatif sonuçların dağılımı	30
Tablo 10: Pozitif ve negatif çıkan sonuçların yaş ve cinsiyete göre dağılımı	31
Tablo 11: Pozitif saptanan hastaların yatış tanılarına göre dağılımı	31
Tablo 12: Pozitif saptanan hastaların altta yatan hastalıklara göre dağılımı	32
Tablo 13: Pozitif saptanan hastaların servislere göre dağılımı	32
Tablo 14: Pozitif saptanan hastaların örnek alma zamanlarının dağılımı	33
Tablo 15: Pozitif çıkan sonuçların risk faktörlerine göre değerlendirilmesi	33
Tablo 16: Pozitif saptanan örneklerin risk faktörleri sayısına göre dağılımı	34
Tablo 17: Pozitif saptanan örneklerin antibiyotik sayısına göre dağılımı	35

## ÖZET

### HASTANEDE UZUN SÜRELİ YATAN HASTALARDA *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* KOLONİZASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

*Clostridium difficile* basit bir ishal tablosundan hayatı tehdit eden kolit tablosuna kadar geniş bir hastalık spektrumu ile karşımıza gelebilir. Sağlıklı erişkinlerde herhangi bir probleme yol açmadan bağırsakta normal flora da az sayıda bulunur. Tedavi amacı ile kullanılan antibiyotikler, sitostatik ilaçlar, radyasyon ve bağırsakların cerrahi işlem öncesi mekanik temizliği gibi hastalara uygulanan işlemler de kolon florasını bozarak çevrede yaygın olarak bulunan *Clostridium difficile* sporlarının yerleşmesine, hastanede yatış süresinin uzaması ve maliyetin artmasına neden olmaktadır.

Bu çalışmada Temmuz- Eylül 2015 tarihleri arası Düzce Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yatarak tedavi gören, 72 saat ve üzerindeki yatış zamanı olan 77 hastaya ait 104 gaita örneği alınarak *Clostridium difficile* ait toksin A/ B varlığı ELİSA yöntemi ile çalışılarak araştırılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastaların, enfeksiyonun yada kolonizasyonun gelişmesinde etkili olan risk faktörleri, araştırılarak kaydedilmiş, kaydedilen veriler SPSS v.22 paket programı analiz edilmiştir. Çalışmaya alınan 77 hastaya ait 104 numuneden yalnızca üç hastaya ait numunede *Clostridium difficile* ToxinA/B pozitif sonuç saptanmıştır. Pozitif saptanan üç hastanın hastane yatış süresinin ortalama bir ay, altta yatan şiddetli hastalığı olan, yatışından itibaren antibiyotik ve mide koruyucu ilaç kullanan hasta olmaları bakımından dikkat çekmiştir.

Sonuçlarımız hastanemiz ve bölgemizden bildirilen ilk veriler olması, açısından önemlidir. Bu konuda yapılmış çalışmaların son derece kısıtlı olduğu ülkemizde verilerimizin, diğer çalışmalara da katkı sağlayacağına inanıyoruz.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Clostridium difficile*, psödomembranöz enterokolit (PMC)

## SUMMARY

### IN THE HOSPITAL, LONG-TERM INVESTIGATION OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* COLONIZATION IN HOSPITALIZED PATIENTS

*Clostridium difficile* may be confronted with a spectrum of diseases ranging from a simple diarrhea to a life-threatening colitis chart. In healthy adults there is a small number of normal florals in the intestine without causing any probing. Treatment of diseases such as antibiotics, cytostatic drugs, radiation and mechanical cleaning of the intestines before surgery also destroys the colon flora and causes the spread of *Clostridium difficile* spores, which are common in the environment, the prolongation of the hospital stay and cost increase.

In this study, 104 gaita samples belonging to 77 patients who were hospitalized for 72 hours or more of inpatient treatment in Düzce University Health Research and Application Center between July and September 2015 were taken and studied by *Clostridium difficile* toxin A / B ELISA method. Risk factors that were effective in the development of infected colonization of patients included in the study were analyzed and recorded by the SPSS v.22 packet program. Only three patients were found positive from *Clostridium difficile* Toxin A / B in 104 samples from 77 patients. The three patients, who were positive, were noted to have an average hospital stay of one month, severe underlying disease, and were taking antibiotics and gastroprotective medication from the time of admission.

Our results are important in terms of our hospital and the fact that it is the first to be reported from our region. We believe that the work done in this subject is extremely limited and that our data will contribute to other studies

**KEYWORDS:** *Clostridium difficile*, pseudomembranous enterocolitis (PMC)

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Amaç ve Kapsam

Günümüzde gelişmiş ülkelerde toksijenik *Clostridium difficile* % 10-30 oranıyla nozokomiyal ishalin en önemli etkenidir. *Clostridium difficile* basit bir ishal tablosundan hayatı tehdit eden kolit tablosuna kadar geniş bir hastalık spektrumu ile karşımıza gelebilir. Sağlıklı erişkinlerde herhangi bir probleme yol açmadan bağırsakta normal florada az sayıda bulunur. Tedavi amacı ile kullanılan antibiyotikler normal flora bakterilerini de etkileyerek, endojen mikroflorayı bozarak enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Ayrıca sitostatik ilaçlar, radyasyon ve bağırsakların cerrahi işlem öncesi mekanik temizliği gibi hastalara uygulanan işlemler de kolon florasını bozarak çevrede yaygın olarak bulunan *Clostridium difficile* sporlarının yerleşmesine zemin hazırlamaktadır.<sup>1,2</sup>

Antibiyotikle ilişkili ishallerin % 20-30'u, kolitlerin % 50-75'i, psödomembranöz enterokolitlerin (PMC) ise % 90'dan fazlasının etkeni *Clostridium difficile* dir. *Clostridium difficile* enfeksiyonu ayrıca hasta başına fazladan 2000-5000 dolar maliyete (fazladan tedavi, yatak, hasta bakımı, temizlik, tetkikler için harcanan para) yol açarken, hastanede kalış süresini 18-30 gün uzatmaktadır. PMC'nin eşlik ettiği ciddi hastalık durumunda ise mortalite oranı % 10-15'tir.<sup>3</sup>

Hastanede yatış süresini uzatıp, maliyetin artmasına neden olmasının yanı sıra PMC nedeni olması ve salgınlara da yol açması *Clostridium difficile*'nin nosokomiyal enfeksiyon olarak araştırılmasını zorunlu kılmaktadır.<sup>4,5</sup>

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

*Clostridium difficile* ilk defa 1935 yılında “Hall” ve “O.Toole” tarafından iki hafta ile bir yaş arasındaki semptomsuz çocukların dışkı ve mekonyumlarından izole edilip “*Bacillus difficilis*” adı verilmiştir.<sup>4</sup> 1970’li yılların sonlarında psödomembranöz kolitin primer sebebi olduğu anlaşılmıştır. Larson ve arkadaşları 1977 yılında yaptıkları çalışmada antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen PMC’li bir hastanın dışkı filtratlarının doku kültürü hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin olduğunu göstererek kaynağı bilinmeyen bir toksinin varlığını öne sürmüşler, 1978 yılında ise da Bartlett ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sitotoksinin kaynağının *Clostridium difficile* olduğunu tespit etmişlerdir. O zamandan beri *Clostridium difficile* nozokomiyal ishal enfeksiyonunun önemli bir sebebi olarak kabul edilmektedir.<sup>4,5</sup>

### 2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

*Clostridium difficile*, 0.5 µm en ve 3.5 µm boyunda, uçları yuvarlak, ince, uzun, düz, Gram pozitif basildir. Dokudan hazırlanan preparatlarda tek tek veya kısa zincirler halinde görülürken, katı besiyerlerinde filamentöz yapıda görülebilmektedir. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanır. Bakteri bedeninden daha geniş, oval, subterminal yerleşimli spora sahiptir.<sup>6,7</sup>

*Clostridium difficile*, adi besiyerlerinde üreyebilir, ancak içinde kan, fruktoz ve yumurta bulunan besiyerlerde daha kolay ürer. Optimal üreme ısısı 37° C, pH 7-7,2’dir. Uygun besiyerlerinde 48 saat inkübasyon sonunda 1-3 mm çapında S tipi koloniler oluşturur. Koloniler 360 nm’lik ultraviyole (UV) ışığı altında incelendiğinde açık yeşilden sarıya kadar değişebilen görünümleri olmaktadır. Bakterinin dışkı gibi kontamine örneklerden izole edilmelerinde içinde antimikrobiyal ajanlar bulunan Cycloserine-Mannitol Agar (CMA), Cycloserine-Mannitol Kanlı Agar (CMBA), Cycloserine-Cefoxitine-Egg Yolk Fructose Agar (CCFA) gibi selektif besiyerleri kullanılır.

CCFA besiyerinde; *Clostridium difficile* 48 saatlik inkübasyondan sonra etrafı sarı halka ile çevrili 3 mm veya daha büyük çaplı filamentöz kenarlı, buzlu cam görünümünde koloniler meydana getirir.<sup>6,7</sup>

*Clostridium difficile*'nin vejetatif şekilleri fizik ve kimyasal etkenlere duyarlı iken; sporları; dirençlidir ve oda ısısında beş ay varlığını sürdürür. *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığın ana virülans belirleyicileri yapısal olarak benzerlik gösteren iki toksindir. Bunlar Toksin A ve Toksin B'dir. Toksin A enterotoksin, toksin B ise sitotoksin özelliğindedir. Çoğu patojenik *Clostridium difficile* suşu her iki toksini de üretmektedir. Her iki toksin de proenflamatuvar, sitotoksik ve insan kolonu üzerine enterotoksik özelliğindedir. Eskiden iki gen tarafından kodlanan toksinlerin; sinerjistik etkili oldukları, hastalık oluşturmada her iki toksinin de salgılanması gerektiği ve kolonda başlangıç hasarın oluşması için toksin A'nın gerekli olduğu düşünülmekteyken, son çalışmalarda toksin A (negatif), B (pozitif) *Clostridium difficile* suşları ile ortaya çıkan salgınlar ve psödomembranöz enterokolit olguları bildirilmiştir.<sup>8,9</sup>

Bu toksinler bakteriyal genom üzerinde birbirine yakın iki farklı gen tarafından kodlanmaktadır. İki toksin yapısal olarak benzerlik ve % 49 homoloji göstermektedir. Her iki toksinin karboksi-terminal bölgeleri benzer glikoziltransferaz aktivitesine sahiptir. Toksin A'da bu üniteler karbonhidrat reseptörlerine bağlanmadan sorumludur. İnsanlarda ve kemiricilerde toksin A spesifik karbonhidrat reseptörlerine bağlanmaktadır. Bu spesifik yapıyı taşıyan karbonhidrat reseptörler insanda bağırsak epitelinde bulunan Lewis, I, X, ve Y'dir. Bunlar toksin A'yı bağlar. Toksinler; farklı hücrelere sitotoksiktir, vasküler permeability ve hemorajiye yol açar. Toksin A, büyük molekül ağırlıklı ve hemen hemen tüm hücre tipleri için toksiktir. Toksisitenin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte enflamasyon bölgesine göç eden polimorf nüveli lökosit (PNL)'leri öldürebilmekte ve PNL'lerden salınan lizozomal enzimler nedeniyle lokal hasar oluşturmaktadır.<sup>10</sup>

Toksin A intestinal sıvı sekresyonunu indükleyen, mukozal permeability artıran ve mukozal inflamasyona yol açan bir enterotoksindir. İki toksin arasındaki en önemli fark toksin A sıvı akümülyasyonuna yol açarken toksin B'nin bunu yapmamasıdır.

Toksin B'nin sitotoksik etkisi hücre iskeletinin bozulması sonucu hücrenin yuvarlaklaşması ile sonuçlanan filamentöz aktin depolimerizasyonu ile olur.

Toksin B'nin aktin polimerizasyonunda rol alan proteinler üzerine indirek bir etkisinin de olabileceği düşünülmektedir.<sup>11,12</sup>



Virülans özelliği yüksek izolatlar, toksin A ve B haricinde aktine özgül ADP riboziltransferaz olan *binary* toksin veya CDT isimli üçüncü bir toksin üretmektedirler. Bu toksin patojenik lokus dışındaki CDT lokus bölgesinde bulunan *cdtA* ve *cdtB* genleri tarafından kodlanmaktadır. Hastalık oluşumunda bu toksinin rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmalar, *binary* toksinin kolon hücre yüzeylerine klostridial yapışmayı artırmak için hücrelerinin dış yüzeylerinde sitotoksik etki yaptığını göstermiştir. Bu bulgular *binary* toksinin daha şiddetli hastalık oluşumunda önemli bir kolonizasyon faktörü olduğunu düşündürmüştür.<sup>13</sup>

### 2.3. Epidemiyoloji

*Clostridium difficile* esas olarak hastane enfeksiyonlarına neden olmakla birlikte, hastane dışı enfeksiyon da yapabilir. Ancak, hastane dışı enfeksiyonların epidemiyolojisi çok iyi bilinmemektedir.<sup>14</sup> *Clostridium difficile* normalde çevrede bulunan zararsız bir bakteridir. Fakat belli şartlar altında hastanelerde salgınlara yol açabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık üç milyon ishal ve kolit olgusuna sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar erişkinlerin yaklaşık % 3'ünün bu patojeni taşıdığını göstermiştir. Hastanede yatan hastalarda ise bu oran % 10-30'a ulaşabilmektedir.<sup>14,15,16</sup>

Kedi, köpek, at, eşek, inek, deve gibi birçok hayvanın kolon florasında olmakla birlikte insana bulaşta hayvan rezervuarlarının önemi yoktur.<sup>7,17</sup>

*Clostridium difficile* esas olarak hastane ortamından kazanılır. Mikroorganizma, yatak kenarlarında, zeminde, pencere kenarlarında, tuvaletlerde ve *Clostridium difficile* ile enfekte hastaya bakım veren personelin ellerinde bulunmaktadır. Enfekte hastanın taburculuğu sonrasında, bakterinin yaklaşık 40 gün kadar hastane ortamında varlığını sürdürdüğü gösterilmiştir. *Clostridium difficile*'nin kazanılma oranı hastanede yatış süresinin uzamasıyla da ilişkili bulunmuştur. Hastanede iki haftaya kadar yatan hastalarda % 13 iken, dört haftadan daha fazla yatan hastalarda ise % 50'lere kadar ulaşabildiği gösterilmiştir.<sup>18</sup>

*Clostridium difficile*'nin primer bulaş yolu fekal-oral yol aracılığıyla insandan insana bulaşmaktadır. Özellikle hastanede yatan hastalar arasında bulaş yaygındır. Aseptomatik taşıyıcılık oranı hastanelerde %7-26 arasındadır. Hastanede kalış süresi *Clostridium difficile* pozitifliği yönünden önemlidir. Bir çalışmada yenidoğan servisinde ilk haftada kültür pozitifliği % 15 iken, ikinci haftada % 33 olarak bulunmuştur. Aseptomatik taşıyıcı olan yeni doğanların bağırsaklarında yüksek oranda toksin A ve B olduğu, ancak bunun erişkinlerdeki gibi hastalık yapmada etkili olmadığı gösterilmiştir. Sağlıklı erişkinlerde bağırsak taşıyıcılığı ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen oranların farklı olması, son bir ayda antibiyotik kullanımı, çalışmada kullanılan yöntemler, çalışmaya alınan grubun etnik özellikleri ve son dönemde hastaneye yatış öyküsü gibi pek çok faktöre bağlanmıştır.<sup>19</sup>

*Clostridium difficile*'in pozitiflik oranı; psödomembranöz enterokolit (PMC)' te %95-100, hastanede yatanlarda %20, sağlıklı erişkinlerde % 3 ve sağlıklı yeni doğanlarda ise %25-80 oranlarında saptanmıştır.<sup>20</sup>

Çevre, özellikle hastane çevresi *Clostridium difficile* için ana kaynaktır. Hastanelerde kaynak endojen veya eksojen olabilmektedir. Endojen kaynaklı olgular daha nadirdir. Aseptomatik taşıyıcılar ve *Clostridium difficile* ile enfekte olan hastalar dışkıyla fazla miktarda mikroorganizma ve spor atmaktadırlar. Antibiyotiğe dirençli *Clostridium difficile* sporları hastane ortamında bulunmakta ve hastalar tarafından ağız yoluyla alınmakta veya kontamine malzeme aracılığıyla bağırsak içine direkt olarak yerleşmektedir. *Clostridium difficile* ile enfekte veya taşıyıcı olan hastaların bakımıyla ilgilenen sağlık personelinin ellerinde % 59 oranında mikroorganizmanın kendisinin ya da sporlarının bulunduğu tespit edilmiştir.

2000'li yılların başlarında *Clostridium difficile* enfeksiyonu (CDE) epidemiyolojisi dramatik olarak değişmiştir. Hastalığın sadece insidansı artmamış, şiddeti de artmıştır. Kanada'da 1991 ile 2003 yılları arasında CDE insidansı her 100.000 kişide 35.6 olgudan 156.3 olguya çıkmıştır. ABD'de de aynı şekilde artan bir CDE insidansı ve hastalık şiddeti bildirilmiştir. Hem Kanada hem de Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde epidemik izolat olarak bilinen ribotip 027 en sık izole edilen ribotip olmuştur.

Ribotip 027 diğeri izolatlardan 16-23 kat daha fazla toksin A ve B salgılamaktadır ve üçüncü toksin olan binary toksin oluşturmaktadır. Ribotip 027 haricinde ABD’de ribotip 106 ile oluşan CDE ve salgınları artan oranda bildirilmeye başlanmıştır. Avrupa’da da CDE artan oranda bildirilmeye başlanmıştır. Avrupa *Clostridium difficile* Çalışma Grubu tarafından CDE insidansının 14 ülke arasında 10.000 hastada 0.13 ile 7.1 olgu arasında değiştiği ve ortalama insidansın her 10.000 hastada 2.45 olgu olduğu bildirilmiştir. Çalışmada 354 toksijenik *Clostridium difficile* izolatı tanımlanmış, bu izolatların 66 farklı ribotipe sahip olduğu ve % 6’sını ribotip 027’nin oluşturduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada ülkeler arasında da farklı ribotiplerin yaygın olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de izole edilen sekiz izolat ribotip 001 olarak bildirilmiştir.<sup>21,22</sup>

#### **2.4. Risk Faktörleri**

*Clostridium difficile* ishali olgularının çoğu önemli psödomembranöz kolit’tir. Risk faktörleri; ileri yaş (65 ve üstü), hastanede yatış süresi, antibiyotik kullanımı, kanser tedavisi, üremi olması, nazogastik tüp takılı olması, endotrakeal tüp varlığı, gastrointestinal sistem operasyonu, altta yatan hastalık veya hastalıkların şiddeti, mide asiditesini azaltan ilaçların kullanılması durumları sayılabilir. Hastaneye yattığı sırada altta yatan hastalığı olan ileri yaşlı hastalarda, *Clostridium difficile* ile kolonize olma olasılığı artmaktadır. Eğer hasta antibiyotik de kullanılıyorsa *Clostridium difficile* ile ilgili hastalık gelişme olasılığı sekiz kat daha fazla görülmektedir. Yaşlıların daha sık ve uzun süre hastanede yatmaları, daha sık antibiyotik kullanmaları, yüksek riskli invaziv girişimlere maruz kalmaları *Clostridium difficile* ile kolonizasyona veya enfeksiyona eğilimi arttırmaktadır.<sup>23, 24</sup> *Clostridium difficile* enfeksiyonuna neden olan antibiyotikler; sıklıkla sefalosporinler, ampisilin, amoksisilin, klindamisin, daha az sıklıkla makrolidler, diğer penisilinler, tetrasiklinler, trimetoprim- sulfametaksazol, kloramfenikol, sülfonamidler, tikarsilin-klavulanik asit, kinolonlar, rifampisin, aminoglikozidler, vankomisin, metronidazol’dür. *Clostridium difficile* ile kolonizasyon veya enfeksiyona karşı temel savunma sistemlerinden biri bağırsağın normal florasıdır. Antibiyotik kullanımı normal florayı bozarak *Clostridium difficile*’nin bağırsakta yerleşmesine ve çoğalmasına izin verebilmektedir. Ayrıca, antibiyotikler, toksin üretimini ve kalın bağırsak mikro florasını etkileyerek de enfeksiyon riskini arttırabilmektedir.<sup>25, 26</sup>

## 2.5. Patogenez

Kolon mikro florasının bozulmasıyla *Clostridium difficile*'ye duyarlı hale gelen kişilerde vejetatif mikroorganizmaların çoğu mide asit ortamından etkilenecek şekilde ölür, spor şekilleri aside dirençli olduğundan, zarar görmeden ince bağırsağa kadar ulaşır. Burada safra asidine maruz kalan sporlar terminal ileumda vejetatif forma dönmekte ve kolon lümeninde çoğalmaktadır. Bu bozulmaya sebep olan ise özellikle klindamisin, geniş spektrumlu penisilinler ve sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmasıdır. *Clostridium difficile* invazyon yapmayan bir bakteridir. Kolon mukozasında kolonize olarak salgıladığı toksinlerle hastalık oluşturur. Flajellar proteinler, yüzey proteinleri ve yüzey adezinlerinin bakteri kolonizasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>27</sup>

*Clostridium difficile*'nin yapmış olduğu toksin A ve B ise hastalık patogenezinde esas rolü oynamaktadır. Her iki toksin de yüksek molekül ağırlıklı ve ısıya duyarlı proteinlerdir. Bunun dışında ADP-ribozile eden toksin gibi bazı diğer toksinler de tanımlanmıştır.<sup>28,29</sup> *Clostridium difficile* bunların dışında in vitro olarak bazı ekstraselüler enzimler yapmaktadır. Ancak, bunların hastalığın patogenezindeki rolleri henüz aydınlığa kavuşturulmamıştır.<sup>28</sup> Her iki toksin de hücre içine endositoz yoluyla girer. Hücre içinde toksinlerin hedefi, aktin hücre iskeletinin bütünlüğünden sorumlu sinyal molekülleri olan rho proteinleridir.<sup>28,30</sup> Bu proteinlerin inaktivasyonu sonucu hücre iskeletinin bütünlüğü bozulur ve protein sentezi inhibe olur, hücreler yuvarlaklaşır ve hücre ölümü görülür. Toksin A ve B ayrıca tümör nekroze edici faktör alfa (TNF $\alpha$ ) ve proinflamatuvar interlökinlerin salgılanmasına neden olarak inflamatuvar yanıtı ve psödomembran gelişmesine yol açar; aynı zamanda kapiller permeabilite ve peristaltizm artışına da neden olurlar.<sup>28, 30, 31</sup>

*Clostridium difficile* ile ilişkili ishal, genellikle antibiyotik tedavisinin dört ile dokuzuncu günleri arasında ortaya çıkarken, antibiyotiklerin kesilmesinden sekiz hafta sonrasına kadar da gelişebilmektedir. Antibiyotik kullanım süresi üç günün üzerinde olduğunda antibiyotik ile ilişkili ishalin gelişme riski iki kattan fazla artmaktadır.<sup>32</sup>

*Clostridium difficile* ile ilişki psödomembranoz intestinal lezyonların özellik arz eden makroskopik ve histolojik görünümü mevcuttur. Hastalık seyrinde erken dönemde 1-2 mm çaplı küçük, sarımsı beyaz plaklar gözlenmekte ve bu lezyonlar büyüyerek birleşebilmektedir. Lezyonlar fibrin, mukus, nekrotik epitel hücreleri ve lökositlerden oluşmakta, genellikle kolona sınırlı olduğundan hastalık enterokolitten çok, psödomembranoz kolit olarak anılmaktadır. psödomembranoz kolit olguların % 90'ında sigmoidoskop ile lezyonlar görüntülenebilir. Sigmoidoskopide 2-10 mm çapında, etraf dokudan yüksek, sarımsı renkte psödomembranlar tüm kolorektal mukozada yaygın olarak gözlenir.<sup>14</sup>

Hastaların % 20'sinde rutin sigmoidoskopide görülemeyen daha proksimal tutulum olabilir. Hastalık nadiren ince bağırsağı tutar. *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının %3'ü fulminant kolit şeklinde seyrederek. Bu durumda, şiddetli karın ağrısı ve diyare, yüksek ateş ve belirgin lökositoz mevcuttur; ancak ileus oluştuysa diyare görülmeyebilir ve bu hastalarda toksik megakolon gelişme riski yüksektir. Protein kaybeden enteropatiye bağlı olarak hipoalbuminemi ve asit gelişebilir. Enfeksiyonun bu şekilde kolon perforasyonu, toksik megakolon, uzamış ileus tablosu ve hatta ölüm görülebilir. Bu hastalarda endoskopi perforasyona yol açabileceği için önerilmez. Laparotomi veya total kolektomi gerekebilir.<sup>14,32</sup>

## **2.6. Bulaş Yolları ve Kaynakları**

### **2.6.1. Çevresel Kontaminasyon**

*Clostridium difficile* sporları ile kontamine çevresel yüzeyler, *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının önemli bir kaynağıdır. *Clostridium difficile* ile kolonize veya enfekte olan hastaların çevresi, diğer hastalara göre daha sıklıkla kontamine olmakta ve kontaminasyon ne kadar yoğun ise salgınlar da o oranda olasılık haline gelmektedir. Zeminler ve banyo alanları en yoğun kontamine olan alanlardır. Ayrıca, tuvaletler, sigmoidoskoplar, sürgüler, hasta odası telefonları ve termometrelerin kontamine olduğu ve nozokomiyal *Clostridium difficile* bulaşı için rezervuar oluşturmaktadır.<sup>14</sup>

### 2.6.2. Asemptomatik Taşıyıcılar

Nozokomiyal *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalık tanımlandığında, aynı klinikte veya aynı odada birçok hastada asemptomatik *Clostridium difficile* taşıyıcılığı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Asemptomatik taşıyıcılarda ishal gelişimi için risk artışı olmamasına rağmen, diğer duyarlı hastalarda enfeksiyon gelişimi için potansiyel oluşturur. Kaynak görevi gören asemptomatik taşıyıcılar fekal yolla organizmayı etrafa yayarak çevreyi kontamine ederler ve daha duyarlı hastalara bulaşmayı sağlayarak enfeksiyona neden olurlar. Taşıyıcılar için tedavi önerilmez. Eğer bu hastalar antibiyotik tedavisi alması gerekiyorsa tedavi sırasında veya tedavi sonrasında ishal gelişebilir. *Clostridium difficile* kültürü pozitif olan hasta ile aynı odada kalan hastanın, kısa süre içerisinde *Clostridium difficile*'yi edinmesi yüksek olasılıkla mümkündür. Dolayısıyla hastane ortamında asemptomatik taşıyıcıların olması, *Clostridium difficile* enfeksiyonları için önemli bir kaynak oluşturur.<sup>25,26</sup>

### 2.6.3. Personel El Taşıyıcılığı

*Clostridium difficile*, hasta bakımından sorumlu personelin elleriyle doğrudan veya çevresel rezervuarlardan ise indirekt temas yoluyla bulaşabilmektedir. Ellerin *Clostridium difficile* ile kontaminasyonu siktir ve hasta teması sonrası ellerin kolonizasyon oranları % 59 gibi yüksek oranlarda saptanmıştır. Kliniklerde, hastane personelinin özellikle hasta sekresyonları ile temas ederken eldiven kullanımının *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığın kazanılmasında önemli azalma sağladığı gösterilmiştir.<sup>33</sup>

### 2.7. Yaptığı Hastalıklar

*Clostridium difficile* enfeksiyonunun ana klinik bulgusu ishal olmakla birlikte hastalık spektrumu asemptomatik taşıyıcılık ile fulminan psödomembranöz kolite, toksik megakolona kadar değişebilmektedir. *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalık antibiyotik tedavisi sırasında veya antibiyotiklerin kesilmesinden birkaç hafta sonra gelişebilmektedir. *Clostridium difficile*'nin kazanılması sonrasında ishal için inkübasyon periyodu ortalama iki gündür. Gelişen ishalin ciddiyeti ve kronikleşme potansiyeli çok değişkendir.

Bazı olgularda semptomlar hafiftir ve sadece antibiyotiklerin kesilmesi sonrasında düzelebilmektedir. Tanısı geciken ve spesifik tedavi verilmeyen olgularda ise ishal kronikleşebilmekte ve ciddi seyredilmektedir. Hastalardaki semptomlar sadece günde birkaç kez yumuşak dışkılama şeklinde olabileceği gibi, çok sayıda, çok hacimli ve sulu dışkılama ve dehidratasyon da görülebilmektedir. Dışkıda mukus varlığı, gizli veya belirgin kan varlığı saptanabilmektedir. Ayrıca, bu hastalara bakım veren personelin dikkatini çekebilen farklı bir fekal koku da olabilir. Abdominal ağrı, ileus, ateş ve lökositoz da görülebilen bulgular arasındadır.<sup>26,34</sup>

Ciddi hastalık komplikasyonları, dehidratasyon, elektrolit dengesizliği, hipotansiyon, hipoalbuminemi, toksik megakolon, kolon perforasyonu, sepsis ve % 1-2 dolaylarında da mortalite görülebilmektedir. *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığın bir başka karakteristik özelliği, başarılı tedavi sonrası bile klinik nüks oranının fazla görülmesidir. Fulminan *Clostridium difficile* koliti ve toksik megakolon daha nadir görülmekte, ancak mortalite oranı yüksek olup ve sıklıkla cerrahi müdahale gerektirmektedir.<sup>13, 25</sup> Dalak apsesi, bakteriyemi, yara enfeksiyonları, osteomyelit, plörit, peritonit ve ürogenital enfeksiyonlar gibi nadiren intestinal sistem dışında da *Clostridium difficile* enfeksiyonları görülebilmektedir. Ayrıca reaktif artrit nedenlerinden biridir.<sup>35,36,37</sup>

## **2.8. *Clostridium Difficile*'nin Laboratuvar Tanısı**

*Clostridium difficile* enfeksiyonlarının tanısı öykü, klinik bulgular, laboratuvar bulguları ve gerektiğinde de endoskopi ile konmaktadır. Öyküsünde antibiyotik kullanımı olan ve diyare gelişen hastada lökositoz, formülde kayma, dışkı yaymasında lökosit görülmesi antibiyotiğe bağlı kolit olasılığını düşündürse de bunun *Clostridium.difficile*'ye bağlı olduğunun gösterilmesi gerekir.<sup>31,38</sup>

### **2.8.1. Mikrobiyolojik İncelemeler**

#### **2.8.1.1. Mikroskopik İnceleme**

Toksin testleri için yeterli örnek alındıktan sonra buradan ayrıca Gram boyaması yapılır. Yine taze preparat hazırlanarak faz kontrast mikroskobu ile yapılan incelemelerde tipik salınım hareketi yapılan sporlu basiller görülebilir. Ancak hem bu şekilde mikroskopik incelemelerin özgülüğü düşüktür.<sup>39,40</sup>

### 2.8.1.2. Toksikjenik Kültür

Normal bir gram dışkdaki *Clostridium difficile* sayısı  $10^2$  kadardır. Bu sayı  $10^3$ - $10^4$ /gr olduğunda kültür, tanı yönünden anlamlı hale gelmektedir.<sup>41</sup>

*Clostridium difficile* izolasyonunda, George ve arkadaşlarının geliştirdikleri CCFA (cefoxitin-cycloserine fructose agar) seğkin besiyeri olarak kullanılmaktadır. Dışkı rneklerinin direkt olarak inoküle edildiği ilk CCFA'nın bileşiminde sikloserin (500 mg/l), sefoksitin (16 mg/l), fruktoz, nötral kırmızısı indikatörü ve yumurta sarısı vardır. Sikloserin ve sefoksitin konsantrasyonlarının çok yüksek olmasına bağlı olarak birçok *Clostridium difficile* suşunun inhibe olduğunun anlaşılması üzerine bu antimikrobiyal ajanların konsantrasyonlarının yarı dozlarını içeren modifikasyonları yapılmıştır. CCEY (cycloserine-cefoxitine-egg yolk) agar gibi CCFA'nın modifikasyonları geliştirilerek kullanıma girmiştir.<sup>42</sup>

*Clostridium difficile*, kanlı agar besiyerinde, 48 saatlik inkübasyonu takiben, hemolizsiz, at dışkısı kokusunda, sarımsı-yeşil floresans veren yaklaşık iki mm çapında, koloniler oluşturur. Bakterinin izolasyonunda en fazla kullanılan besiyeri CCFA (cycloserin cefoxitin fructose agar)'dır. *Clostridium difficile* indikatörlü (neutral red) CCFA besiyerinde UV lambası altında incelendiğinde floresans veren, yaklaşık üç mm çapında, altın sarısı renge koloniler oluşturur.<sup>34, 43, 44</sup>

Dışkı rneklerinin ısı veya alkolle işleme tabi tutulduktan sonra CCFA'ya pasajlarının yapılması *Clostridium difficile* izolasyon oranını arttırmaktadır.<sup>37</sup>Kültürde üreyen koloniler lateks aglütinasyon, Gaz-kromatografi veya biyokimyasal yöntemlerle identifiye edilir.<sup>40</sup>

Kültür duyarlı olmasına rağmen, kompleks oluşu, toksijenik ve nontoksijenik suşları ayırt edememesi gibi nedenlerle kısmen merkezi laboratuvarlarda uygulanır ve daha çok salgın zamanlarında epidemiyolojik açıdan önem kazanır. Bazı hastanelerde nontoksijenik suşların oranı % 20-25'i bulmakta olup, bu sorun toksin testleri ile kombine edildiğinde çözülebilmektedir. Ancak bu da ilave zaman ve maliyet anlamı taşımaktadır.<sup>39,45</sup>



## 2.8.2. Toksin Aramaya Yönelik Testler

### 2.8.2.1. Hücre Kültürü

Dışkı örneklerinde 10 pg'lik sitotoksin saptayabilen hücre kültürleri, toksinlerin varlığını araştırmada altın standart olarak kabul edilir.<sup>41</sup>

Bu yöntemde, (Hep2) insan epidermoid karsinoma hücreleri, (CHO) Chinese Hamster Ovary hücreleri, (MRC 5, WI-38) insan embriyonik akciğer fibroblast hücreleri, (FL) insan amniyon hücreleri ve (Vero) Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri gibi hücre kültürleri kullanılmaktadır.<sup>46,47</sup>

Sıvı dışkı örnekleri santrifüje edildikten sonra elde edilen süpernatant, filtrelerden geçirilerek bakteriden arındırılır. Elde edilen filtrattan bir miktar saydam hücre kültürü kaplarına eklenir. 37° C'de 24-48 saat anaerob inkübasyondan sonra, ışık mikroskopunda sitopatik etki (yuvarlaklaşma) aranır. Normal dışkı örnekleri çalışmaya uygun olmadığı için rutin işlemlerde en az on, hatta yüz kez dilüe edilmiş dışkılarından toksisite titreleri araştırılır.<sup>47</sup>

Doğrulama için besiyerine *Clostridium sordelli* ya da *Clostridium difficile*'ye karşı hazırlanmış antiserum eklendiğinde bu sitopatik etkinin ortadan kalkmasıyla konur.<sup>45,48</sup>

Hücre kültürünün dezavantajı uzun sürede sonuç alınması, pahalı olması, standardizasyonunun sağlanamamış olması, her laboratuvarında uygulanamaması ve doğrulama için referans laboratuvarına gereksinim olması ve %2 vaka non spesifik sitopatik etki oluşmasıdır. Bu nedenle pratik bir yöntem değildir.<sup>48,49</sup> Her ne kadar altın standart olarak kabul edilse de toksin B'nin proteazlarla parçalanması sonucunda yalancı negatiflikler de görülebilmektedir.<sup>50</sup>

### 2.8.2.2. Antijen Arama Testleri

#### 2.8.2.2.1. Toksin A veya Toksin A ve B Antijeni Aranması

Dışkıda *Clostridium difficile* toksinlerinin saptanması amacıyla yönelik olarak sadece toksin A veya hem toksin A hem de toksin B'yi saptayabilen bir çok ticari kit üretilmiştir.

Değişik çalışmalarda sadece toksin A'yı saptayabilen testlerin duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla % 63-94 ve % 75-100, hem toksini A hem de toksin B'yi saptayan testlerde ise oranlar % 76-95 ve % 98-100 olarak bildirilmiştir.<sup>47,51</sup> *Clostridium difficile*'ye bağlı ishal hastalarının mikrobiyolojik tanısında hücresel sitotoksite testleri altın standart olarak kabul edilse de, EIA testlerinin yüksek düzeylerde özgüllük ve duyarlılığa sahip olması, kısa sürede sonuç vermesi, uygulanabilirliğinin daha kolay ve zahmetsiz olması yanında maliyetinin düşük olması gibi sebeplerle klinik laboratuvarlar için alternatif bir yöntem olarak önerilir.<sup>44,52</sup> Fakat bu yöntemle 100-1000 pg toksin A veya B saptanabilmektedir. Bu sebeple % 10-20 oranında yalancı negatiflik söz konusudur.<sup>48</sup> Ticari kitlerin bir kısmı sadece toksin A'yı saptamaya yöneliktir, *Clostridium difficile* suşlarının % 1-2'si toksin A üretmediği için toksin A ve B'yi birlikte saptayabilen kitler tercih edilir. Bu yöntem ile üç dışkı örneği incelenmesi tanı şansını % 5-10 arttırırken, maliyeti yükseltir.<sup>39,48</sup>

#### **2.8.2.2.2. Glutamat Dehidrogenaz Antijeni Aranması**

*Clostridium difficile* toksinleri dışında, hem toksin oluşturan hem de oluşturmeyen *Clostridium difficile* suşlarının ürettiği metabolik enzim olan, başlangıçta bunun tesbiti için lateks aglütinasyon yöntemi geliştirilmiştir. Hızlı, basit ve ucuz bir testtir. Hücresel metabolizma üzerinde önemli rol oynayan glutamat dehidrogenaz enzimi yüksek oranda immünojenik olup memeli hücreleri ve diğer bakterilerle de ilişkilidir. Dolayısıyla bu enzime karşı oluşan antikorların saptanması esasına dayanan testlerde toksijenik ve nontoksijenik *Clostridium difficile* izolatları ile diğer mikroorganizmalar veya memeli hücreleri arasında ayırım yapılmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu tür testlerde pozitif ve negatif prediktif değerler % 63-98 arasında değişir. Lateks aglütinasyon testlerinin hızlı taramalar için uygun olduğu ama ancak pozitif sonuçların diğer testlerle doğrulanması gerektiği bildirilmektedir.<sup>26, 53, 54</sup> Diğer testlere oranla duyarlılığının ve özgüllüğünün düşük olması nedeni ile yaygın kullanım alanı bulamamıştır.<sup>39</sup>

Daha sonraları ise sensitivitesi % 85– % 95 ve spesifitesi % 89– % 99 arasında olan glutamat dehidrogenaz antijenini (GDH) tesbit eden EIA testleri geliştirilmiştir. Çoğu laboratuvar ilk basamağında GDH testi olan iki basamaklı algoritmayı kullanmaktadır. Bu algoritmada ilk önce GDH testi yapılmakta, eğer negatif ise ileri test yapılmamaktadır.

Eğer test pozitif ise toksin testi yapılması gerekmektedir. GDH testi pozitif, toksin testi negatif ise, ya hasta toksijenik olmayan bir *Clostridium difficile* taşımakta veya toksin testinin yalancı negatif sonuç verdiği düşünülmektedir.<sup>55</sup>

#### **2.8.2.2.3. İmmünokromatografik Testler**

Toksin A'yı saptamaya yönelik kısa sürede sonuç veren tarama testleridir. Bazıları glutamat dehidrogenaz enzimini de saptar. Diğer sitotoksin testlerine göre bunların da duyarlılığı daha düşüktür (% 70-90.6). Tanı amaçlı tek başına kullanılması önerilmez.<sup>56, 57</sup>Lateks aglütinasyon ve bu testin hücre kültürü sitotoksite testlerine tek üstünlüğü daha hızlı ve ucuz olması, uygulama kolaylığı ve tek veya birden fazla hasta örneğini çalışmak için uygun olmasıdır.<sup>48</sup>

#### **2.8.3. Zıt Yönlü İmmunoelektroforez ( Counter Immun Elektroforeze )**

*Clostridium difficile* toksinlerinin dışkı örneklerinde Zıt Yönlü İmmunoelektroforez (Counter Immun Elektroforeze -CIE) ile saptanması bazı laboratuvarlarda *Clostridium difficile* ile ilgili hastalığın tanısını koymakta yardımcı bir test olarak kullanılmıştır. Fakat birçok çalışma bunun kullanılmasını desteklememiştir. Hücresel sitotoksite ile karşılaştırıldığında % 53-75 arasında yalancı negatiflik ve pozitif oranları; antijen saflığına, antikorun özgüllüğüne ve klinik örneklerdeki sitotoksin miktarının yetersizliğine bağlı görünmektedir. CIE duyarlılık ve özgüllüğü düşük olduğu için tanıda kullanılması önerilmez.<sup>26</sup>

#### **2.8.4. Floresan Antikor Testi ( FAT )**

Canlı *Clostridium difficile* izolatlarının tavşanlara verilmesi ile elde edilen antiserumlar kullanılarak yapılmaktadır. Fakat antikor özgüllüğünün olmaması ve antiserumun *C.sordelli*, *C.bifermentans*, *C.chauvoei* ile *C.sporogenes* izolatlarına karşı da reaktivite göstermesi sebebi ile tercih edilmemektedir.<sup>17, 26</sup>

## 2.8.5. Moleküler Yöntemler

### 2.8.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ( PCR )

Bu yöntem klinik örneklerdeki az miktardaki *Clostridium difficile* DNA'sının bir enzim (polimeraz) yardımı ile amplifikasyonu sonucunda saptanabilir hale getirilmesi temeline dayanmaktadır. Son yıllarda monoklonal *Clostridium difficile* antikoru ile kaplanmış manyetik boncukların dışkı örneği ile inkübe edilmesi, daha sonra bu boncukların mıknatıs yardımı ile çıkarılması ve toksin B genine özgül primerlerle PCR'da işleme sokulması esasına dayanan manyetik immüno-PCR testi geliştirilmiştir. Duyarlılığı % 96.7, özgüllüğü % 100 olan bu testin hızlı ve duyarlı bir yöntem olduğuna inanılmaktadır.<sup>58</sup>

### 2.8.6. Diğer Testler

İnflamatuvar yanıt için belirleyici rolü olan laktoferrin, TNF-alfa, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin salınımını *Clostridium difficile*'nin uyardığı ve bunların bakılmasının *Clostridium difficile*'nin enfeksiyonu tanısında ek bilgi sağlayacağı belirtilmektedir.<sup>55,56</sup> Taşıyıcılardan ayırt etmek için sadece sulu ve son 36 saat içinde en az altı kez sulu dışkılama olan hastaların dışkıları kabul edilmelidir. Bu işlem için rutin dışkı kapları uygundur. Laboratuvar incelemesi ilk 24 saatte +4°C'de, daha uzun süre bekleyecekse -20°C'de bekletilmelidir.<sup>59,60</sup>

### 2.8.6.1. Biyokimyasal Testler

#### 2.8.6.1.1. Rutin Biyokimyasal Testler

Lökositozun yanında, ciddi hastalarda gelişen enteropatiye bağlı olarak dehidratasyon, protein kaybı sonucunda ortaya çıkan hipoalbuminemi ve diğer bazı elektrolit anormalileri saptanabilir. Yine fekal lökositlerin saptanması *Clostridium difficile* enfeksiyonunu destekleyen nonspesifik bulgulardır.<sup>39,48</sup>

#### 2.8.6.1.2. Gaz-Likid Kromatografisi

Bu anaerob bakteriler metabolizmaları sonucu uçucu spesifik metabolitler oluştururlar.

Gaz-likid kromatografisi ile bu metabolitler saptanarak, *Clostridium difficile*'nin kesin tanımlayıcı identifikasyonu yapılmaktadır.

Dışkı örneğinde izokaproik asit saptanması bakterinin göstergesi olabilir; diğer metabolitler *Clostridium difficile*'ye özgül değildir. Bu yöntem de özel ekipman gerektirmesi nedeniyle rutin uygulamaya girebilmiş bir yöntem değildir.<sup>61</sup>

### **2.8.6.2. Radyolojik İncelemeler**

Abdominal radyografi ve bilgisayarlı tomografi *Clostridium difficile* enfeksiyon tanısında yardımcı olsa da bu amaçla en çok tercih edilebilecek radyolojik inceleme endoskopi ile dir.<sup>48</sup> Abdominal radyogramda kolon ve çekumdaki dilatasyonları, incebağırsaktaki hava-su seviyesini görmek mümkündür. Bilgisayarlı tomografide ise kolondaki kalınlaşmalar ve katlanmalar görülebilir. Fakat bunlar tamamen nonspesifik bulgulardır.<sup>39</sup> Endoskopik yöntemler de kolon duvarındaki lezyonlar incelenir.

### **2.9. Tedavi**

Tedavide en önemli adım kullanılmakta olan antibiyotiğin kesilmesidir. Hafif ve orta şiddette enfeksiyonların önemli bir bölümü antibiyotiğin kesilmesi ile birlikte destekleyici tedaviye gayet iyi yanıt verir. Fakat daha ağır enfeksiyonlarda ve altta yatan hastalığı olanlarda buna ek olarak oral metronidazol ya da vankomisin tedavisi gerekmektedir.<sup>62</sup> Basitrasin, teikoplanin ve fusidik asit gereğinde kullanılabilir. Antibakteriyel seçeneklerdir.<sup>62,63</sup> Metronidazol *Clostridium difficile*'ye *in vitro* olarak çok etkili olduğu gibi vankomisinden de ucuzdur. Tedavi başlanacak hastalarda ilk olarak metronidazol seçilmelidir.<sup>63</sup> Her iki ilacın da başlangıç tedavisi 10-14 gündür. Hastaların % 80-90'ında her iki antibiyotikle yapılan başlangıç tedavisine klinik yanıt alınır da metronidazol ile % 5-16, vankomisin ile % 16-33 oranlarında relaps görülür.<sup>63</sup> Relaps büyük olasılıkla *Clostridium difficile* sporlarının persistansına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu hastaların tedavisinde aynı ilaçlar azaltılan dozlarda daha uzun süreler uygulanır.<sup>62,64</sup> Antibiyotik tedavisine ek olarak relapsla seyreden hastalarda toksin bağlayıcı etkileri sebebi ile kolestimamin ve kolestipol gibi anyon bağlayan reçineler kullanılmaktadır.<sup>30,38,62,64</sup>

Tekrarlayan hastalarda bakteri toksinine karşı Ig G düzeylerinin düşük olması sebebi ile intravenöz immünglobulin uygulanması rekürrensleri önleyebildiği gibi ağır kolit hastalarında da tedavi edici etki göstermektedir. Ayrıca formalinle inaktive toksoid aşılar da geliştirilmiştir.<sup>27, 30</sup>

Son yıllarda denenen bir diğer tedavi yöntemi probiyotiklerin kullanılmasıdır.<sup>62,63</sup> Probiyotiklerin İlk çağlardan beri mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Ancak modern anlamda biyoterapötik ajanların kullanımı ile ilgili ilk fikir 1908 yılında Nobel Tıp Ödülü sahibi olan Rus bilim adamı Ellie Metchnikoff'a aittir. Probiyotikler in vivo patojenlere karşı antagonistik aktiviteye sahip mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar canlılarda intestinal ekosistemin kurulmasında ve korunmasında rol oynarlar. Probiyotiklerin tedavi amacıyla kullanılabilmesi için sayılarının yeterli olması, stabil kalabilmeleri, verildiklerinde ve sindirim süresince yaşıyor olabilmeleri, intestinal ekosistemde canlılıklarını koruyabilmeleri, zararsız olmaları ve konak defansı üzerinde olumlu etki göstermeleri gerekmektedir.<sup>65</sup> *Latobacillus acidophilus*, *Lactobacillus GG*, *Enterococcus faecium SF*, nontoksijenik *Clostridium difficile*, yoğurt ve bira mayası ile özellikle *Saccharomyces boulardii* den elde edilen sonuçlar ümit vericidir. *S.boulardii*'nin antibiyotiğe bağlı ishalin önlenmesi ve tedavisindeki etkisi olduğu bilinmektedir.<sup>65</sup>

## **2.10. Korunma**

### **2.10.1. Bariyer önlemleri**

Hastaların izole edilmesinde; el yıkama ve eldiven kullanımı bariyer önlemlerinin temelini oluşturur. Çok sayıda çalışmada kontamine ellerle hastane ortamında yayılım gösterilmiş ve bu durum eldiven kullanımı ile engellenebilmiştir. Hasta veya vücut sıvılarıyla temas sonrası su ve sabunla ellerin yıkanması, personelin elleriyle bulaşı önlemede en etkili yoldur. Alkol bazlı el antiseptiklerinin sporisidal etkinliği olmadığından *Clostridium difficile* enfeksiyonlarında etkili değildir.<sup>66,67</sup>

*Clostridium difficile* enfeksiyonlarının kontrolünde yayılımı önlemek için; tek kullanımlık eldiven, tek kullanımlık termometre, maksimum temas önlemleri ve çevresel dezenfeksiyon uygulanmalıdır.

Klinik hastalık gelişimini engellemek için; hızlı tanı konulması ve semptomatik hastaların tedavilerinin yapılması, akılcı antibiyotik kullanımı ve tekrarları engellemek için gerekli tedavinin yapılması gereklidir. Ayrıca erken tanıda izolasyon uygulanması kolaylaşacak ve yayılım önlenecektir.<sup>68,69</sup>

*Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığı olanların izolasyonu önerilmekte fakat izolasyon süresi ile ilgili görüş net değildir. Genel olarak yapılan uygulama, izolasyonun ishal sonlanıncaya kadar sürdürülmesi şeklindedir. Ancak cilt kontaminasyonunun yoğun bir şekilde devam etmesinden dolayı daha uzun süre izolasyon gerekliliği de öne sürülmektedir.<sup>70,71</sup> Steteskop, tansiyon aleti gibi hastada kullanılacak aletlerin hastaya özel olması veya başka hastada kullanılmadan önce dezenfekte edilmesi gereklidir. Ayrıca, enfekte veya kolonize hastaların bakımı sırasında önlük ve eldiven giyilmesi, işlem tamamlanınca önce eldiven sonra önlük çıkarıldıktan sonra ellerin sıvı sabun veya antimikrobiyal etkili sıvı sabunla yıkanması önerilmektedir.<sup>72,73</sup>

### **2.10.2. Çevre Temizliği ve Dezenfeksiyon**

Hastane yüzeyleri, yatak ve ekipmanları, tuvaletler, kapı ve pencere yüzeyleri, hasta besleme ekipmanları, elektronik termometreler gibi kritik olmayan malzemeler yaygın olarak *Clostridium difficile* sporları ile kontamine edilmiştir ve bu yüzeylerle temas eden, bu aletleri ve ekipmanları kullanan sağlık çalışanları bu enfeksiyon bulaşımının önemli vektörleridir. Hastane çevresinde *Clostridium difficile* sporları fekal yolla yayılarak yüzeylerde ve aletlerde kuru olarak beş ay gibi uzun süre canlı kalarak hastanede enfeksiyon ve salgınların oluşmasına neden olabilmektedir. *Clostridium difficile*'li hastaların kaldığı alanlarda kontaminasyon %49, asemptomatik hastaların kaldığı alanlarda ise kontaminasyon oranı %29 olarak saptanmıştır.<sup>74,75</sup>

Çalışmalarda çevresel alan ve aletlerin *Clostridium difficile* ile kontamine olduğu gösterilmiştir. *Clostridium difficile*, sağlık personelinin ellerinden, hastalardan ve *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığı olan hastaların ziyaretçilerinden izole edilebilmektedir. Oda kontaminasyonunun yoğunluğu odadaki hastanın durumu ile orantılıdır; *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalığı olan hastanın odasında kontaminasyon daha yoğun iken, *Clostridium difficile* asemptomatik taşıyıcısı olan hastanın odası orta derecede kontamine edilmiştir.

Hasta çevresinin kontaminasyonu, sporisidal dezenfektanlar kullanılarak yapılan temizlikle azaltılabilmektedir. Hipoklorid solüsyonları, gluteraldehid, asetik asit ve hidrojen peroksit kombinasyonları kullanılabilir. Deterjanlar ve kuaterner amonyum bazlı bileşiklerin sporisidal olmamalarından dolayı etkin olmadıkları bilinmektedir. Tek kullanımlık termometrelerin kullanılması *Clostridium difficile* enfeksiyonlarını azaltmıştır. Fleksibl sigmoidoskoplar ve kolonoskoplar sık kontamine olan aletler arasındadır. *Clostridium difficile*'de sporisidal etki sağlamak için aletlerin; mekanik temizliği sağlandıktan sonra yüksek düzey alet dezenfektanı ile dezenfekte edilmesi uygun dezenfeksiyon için yeterli olmaktadır.<sup>76</sup>

### **2.10.3. Asemptomatik *Clostridium difficile* Taşıyıcılarının Tanımlanması ve Tedavisi**

Asemptomatik *Clostridium difficile* taşıyıcıları, diğer hastalara personelin elleri veya çevrenin kontaminasyonu yoluyla bulaş kaynağı olduğundan önem taşımaktadır. *Clostridium difficile* sporları çevrede beş ay boyunca varlığını sürdürmektedir. Ayrıca, bazı suşlarda diğerlerine oranla daha fazla miktarda spor yapımı olduğu, dolayısıyla bu suşlarda gelişen enfeksiyonlarda çevresel kontaminasyon yoğunluğu nedeniyle daha yüksek sayıda hastanın etkilendiği, salgınlara yol açma kapasitelerinin daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle taşıyıcıların tanımlanması için gaita ve / veya rektal sürüntü örneklerinin alınması ve tarama yapılması gerekliliği belirlenmiştir. Asemptomatik taşıyıcıların metronidazol veya vankomisin ile tedavi edilmesi ise anlamlı bulunmamıştır.<sup>77,78</sup>

### **2.10.4. Hastaların, Hasta Yakınlarının ve Personelin Eğitimi**

Hemşireler, hasta bakımında; hastalar, aileleri ve diğer hastane personeliyle ilişki içindedirler. Bu nedenle özellikle hemşirelerin konuyla ilgili bilgi düzeyleri önemlidir. Hasta bakımında alınması gereken önlemler, uygulamalı eğitimler yoluyla anlatılarak önlemlere uyum sağlanmalıdır. Özellikle bir hastadan diğerine geçişte, aynı hasta üzerinde kirli alandan temiz alana geçişlerde eller su ve sabunla yıkanmalıdır. Hasta bakımı sırasında eldiven ve/veya önlük giyilmelidir.



Semptomatik hastalar özel odalara yerleştirilmeli, eğer hasta dışkısını tutamıyorsa enterik izolasyon önlemleri uygulanmalıdır. Rektal termometreler kullanılmamalıdır. Tek kullanımlık termometreler tercih edilmelidir. Salgın durumlarında antibiyotik kullanımı kısıtlanmalıdır. Çevre yüzeyleri sporisidal ürünlerle dezenfekte edilmelidir. Kontamine araç ve gereçler 5000 ppm olarak hazırlanmış sodyum hipoklorid ile dezenfekte edilmelidir. Sağlık personeli, hasta ve hasta yakını hastalık ve epidemiyoloji açısından bilgilendirilmelidir.<sup>79</sup>

#### **2.10.5. Antimikrobiyal Kullanımının Kısıtlanması**

Semptomatik *Clostridium difficile* enfeksiyonu gelişen hastalarda, öncesinde antimikrobiyal ilaç kullanımı neredeyse değişmez bir bulgu olarak saptanmıştır. *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalık riski, ampisilin, amoksisilin, klindamisin ve sefalosporinler gibi antimikrobiyallerin kullanımında yüksektir. Birden çok antimikrobiyal bir arada kullanıldığında, ayrıca tedavi süresi uzadıkça, doz sayısı arttıkça, antimikrobiyal ajan profilaktik değil de tedavi amaçlı kullanılıyorsa risk daha da yüksektir. Antimikrobiyal kullanımının kısıtlanması ve tedavi süresinin kısaltılması, *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalık riskini azaltacak uygulamalardır.<sup>71, 80, 81</sup>

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Araştırmamız Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından desteklenen 2015.04.01.323 protokol numaralı projedir. Yine çalışmaya başlamadan önce Düzce Üniversitesi Etik kurulundan 17.02.2015 tarih ve 2014/ 118 sayı ile etik kurul onayı alınmış ve ekte sunulmuştur.

#### **3.1. Hastaların Seçimi**

Bu çalışmaya Temmuz - Eylül 2015 tarihleri arasında, Düzce Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinde yoğun bakım ünitelerinde yatan 35 hastadan 59 adet gaita örneği, dahili kliniklerde yatan 33 hastadan 36 adet gaita örneği ve cerrahi kliniklerde yatan 9 (dokuz) hastadan 9 (dokuz) adet gaita örneği alınarak toplam 104 adet gaita örneği çalışmaya dahil edilmiştir. 18 yaş altı çocuk hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

#### **3.2. Hastaların Örneklerinin Seçimi**

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait gaita örnekleri, hastaların hastaneye yatışlarından 72 saat sonra alınmıştır. Hastaların yatışlarından itibaren birinci hafta (3-7.ci günleri arası), ikinci hafta ( 8-14.cü günleri arası), üçüncü hafta (15-21.ci günleri arası), dördüncü hafta (22-28.ci günleri arası) ve beşinci hafta (28.ci gün ve üzeri)'larda olmak üzere 77 hastaya ait toplam 104 gaita örneği alınmıştır. Alınan gaita örnekleri *Clostridium difficile* toksin A/ toksin B Enzim immunoassay yöntemi ile çalışılncaya kadar derin dondurucuda eksi 20<sup>0</sup> C saklanmıştır.

#### **3.3. Hasta Bilgileri**

Çalışmaya dahil edilen hastaların, adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, yaşadıkları yer (merkez, ilçe, köy), yatış tanısı, altta yatan hastalıkları, yatış süresi, örnek alma haftası, antibiyotik tedavisi alıp almadığı alıyorsa antibiyotiğin özelliği ve kaçınıcı günü olduğu, kanser tedavisi alıp almadığı, üremi bulgusunu, nazogastrik tüp varlığı, endotrakeal tüp varlığı, GİS operasyonu geçirip, geçirmediği ve mide koruyucu tedavi alıp- almadığı sorgulanmış ve elde edilen veriler Microsoft Office Excel programına kaydedilmiştir.

### 3.4. İstatistik

Çalışmanın istatistiksel olarak verileri; sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma, kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde özetlenmiştir. Tanımlayıcı istatistikler SPSS v.22 paket programı ile hesaplanmıştır.

### 3.5. Çalışma Yöntemi

#### 3.5.1. Gereç

Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan ve çalışıncaya kadar eksi 20<sup>0</sup>C saklanan gaita örneklerinde *Clostridium difficile* A ve B toksinlerinin kantitatif olarak araştırılması, ELİSA yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bunun için R-Biopharm AG, RIDASCREEN (Darmstadt, Germany) ticari marka *Clostridium difficile* Toxin A/B kiti kullanılmış ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışma yapılmıştır

#### 3.5.2. Çalışma şekli

R-Biopharm AG, RIDASCREEN Germany ticari marka *Clostridium difficile* Toxin A/B kitinin üretici önerileri aşağıdaki gibi olup, çalışma bu prensiplere göre yapılmıştır.

- Buna göre derin dondurucu eksi 20<sup>0</sup>C de çalışma saatine kadar saklanan gaita örneklerinin oda ısısında çözümleri sağlanmıştır. Daha sonra aşağıdaki prosedür adım adım gerçekleştirilmiştir
- Buzdolabında saklanan 96'lık pleytler oda sıcaklığında 20-25 dereceye getirilmiştir.
- Yıkama solüsyonu 1/10'luk olarak hazırlanmış distile su ile dilüe edilmiştir.
- Gaita örnekleri sırayla birinci sırada pozitif kontrol, ikinci sırada negatif kontrol olacak şekilde mikrokuyucuklar içine aynı ölçüde koyulmuştur.
- Kuyucuk içine yerleştirilen gaita örnekleri dilisyon buffer ile 1/11 oranında dilüe edilmiştir.
- Oda sıcaklığında 20-25 derecede 60 dk. inkübe edilmiştir.
- Dilüe edilmiş yıkama solüsyonu ile her seferinde 300 IU kullanarak 5 kez yıkanmıştır.
- 50 IU konjugat eklenerek, oda sıcaklığında 20-25 derecede 30 dk. İnkübe edilmiştir.
- Tekrar dilüe edilmiş yıkama solüsyonu ile her seferinde 300 IU kullanarak 5 kez yıkanmıştır.

- Her kuyucuğa 100 IU substrat eklenmiştir.
- Son olarak 50 IU stop eklenerek 450 nm'de fotometrik ölçüm yapılmıştır.
- 450 nm'de, negatif kontrol 0.2 den küçük, pozitif kontrol ise 0.8 den büyük olarak hesaplanmıştır.
- Değerlendirme; Cut off= Negatif kontrol OD + 0.15
- Cut off değerinin % 10 fazlasının üzerinde değere sahip olan örnekler pozitif kabul edilmiştir. % 10 az veya fazla olan alana giren değerler şüpheli kabul edilerek tekrar çalışılmıştır. İkinci kez çalışmaya rağmen şüpheli gelen örnekler negatif kabul edilmiştir.
- Cut off değerinde % 10 eksikinden daha az değere sahip örnekler ise negatif kabul edilmiştir.



## 4. BULGULAR

Çalışmamızda 72 saat ve üzerindeki yatış günü olan 77 hastaya ait 104 gaita örneği incelenmiştir. Hastalardan gaita örneği alınırken, yattığı klinik, yaş, cinsiyet, yatış tanısı veya tanıları, altta yatan hastalıkları, antibiyotik kullanma öyküsü, kanser tedavisi alma, börek fonksiyon bozukluğu, nazogastrik tüp varlığı, endotrakeal tüp varlığı, gastrointestinal sistem operasyonu geçirmiş olma hikayesi ve mide koruyucu ilaç alma riskleri sorgulanmış ve elde edilen veriler Microsoft Office Excel programına kaydedilmiştir. Hastalar antibiyotik kullanma özellikleri bakımından ayrıca değerlendirilmiş ve yine aynı programa kaydedilmiştir.

### 4.1. Genel Özellikleri

Araştırmaya alınan hastaların toplam 77 hastanın yaş ortalaması  $68,92 \pm 15,57$  olarak hesaplanmış olup bunların, 37 tanesi erkek, 40 tanesi ise kadın hastalara aittir. Araştırmaya alınan bireylerin demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Özellik		Hasta sayısı (n=77)
Yaş	(Ort±SS)	68,92±15,57
Cinsiyet	Erkek	37 (48,1)
	Kadın	40 (51,9)

Örnek alınan hastaların hastanede ortalama yatış süreleri oluşturulan anket formuna kaydedilmiştir. Bu veriler incelendiğinde hastaların ortalama yatış sürelerinin 12(4-240) gün olduğu görülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait örneklerin 59 tanesi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan, 45 tanesi ise yoğun bakım dışında kalan servis hastalarından alınmıştır. Bunların ise 36 tanesi dahili branşlarda yatan hastalardan, 9 tanesi ise cerrahi kliniklerde yatan hastalardan alınmıştır. Örneklerin alındıkları kliniklere göre dağılımı Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Örnek alınan hastaların servislere göre dağılımı

Klinik	Hasta Sayısı	
	n=77	%
YBÜ	36	46,8
Dahili	33	42,96
Cerrahi	8	10,4

Yine örnek alınan hastaların yatış tanıları incelenmiş ve bu tanıların serebrovasküler hastalık, travma/ yaralanma, pulmoner, kardiyak, enfeksiyon, malignite, cerrahi girişim, böbrek yetmezliği ve psikiyatrik bozukluk olarak saptanmıştır. Hastaların yatış tanıları dağılımı Tablo 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Çalışmaya alınan hastaların yatış tanıları

Tanı	n=77	%
Serebrovasküler	13	16,9
Travma/yaralanma	6	7,8
Pulmoner	18	23,4
Kardiyak	5	6,5
Enfeksiyon	15	19,5
Malignite	3	3,9
Ameliyat	5	6,5
Böbrek yetmezliği	11	14,3
Deliryum	1	1,3

Araştırmamızda çalışma grubunu oluşturan hastaların hastaneye yattıktan sonraki süreçte altta yatan hastalıkları araştırılmış altta yatan en sık hastalık olarak kardiyak kökenli hastalık tespit edilmiştir. Tablo 4’ de gösterilmiştir

**Tablo 4.** Hastaların altta yatan hastalıklarının dağılımı

Hastalık	n=77	%
Yok	7	9,1
Serebrovasküler	9	11,7
Pulmoner	9	11,7
Kardiyak	32	41,6
Enfeksiyon	2	2,6
Malignite	7	9,1
DM	2	2,6
Böbrek	7	9,1
Alzheimer/parkinson	1	1,3
Gebe	1	1,3

Hastalardan alınan gaita örnekleri hastaların yatışlarından 72 saat sonra alınmaya başlanmış ve sonraki haftaların herhangi bir gününde beş hafta boyunca alınmıştır. Örneklerin alınma zamanları Tablo 5’ de gösterilmiştir

**Tablo 5.** Örnek alma zamanlarının haftalarına göre dağılımı

Örnek haftası	n=77	%
1	33	42,9
2	25	32,5
3	18	23,4
4	14	18,2
5	14	18,2

## 4.2. Risk Faktörleri

Çalışmada dahil edilen hastaların *Clostridium difficile* açısından risk faktörlerinin varlığı araştırılmış ve Microsoft Office Excel programına kaydedilmiştir. Çalışmaya alınan hastalar, antibiyotik kullanma, 65 yaş ve üstünde olma, mide koruyucu ilaç tedavisi alma, kanser tedavisi alma, üremik bulgularının olması, nazogastrik tüp varlığı, endotrakeal tüp varlığı, gastrointestinal sisteme yönelik cerrahi girişim geçirme gibi risk faktörlerinin olup olmadığı incelenmiş ve bunlara ait bilgilerin dağılımı Tablo 6' da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Risk faktörlerin dağılımı

Risk Faktörleri	n=77	%
Antibiyotik	77	100
Mide Koruyucu	77	100
65 yaş üstü	50	64,9
Tüp	35	45,5
Üremi	20	26
Kanser	9	11,7
GİS op	4	5,2

Yine çalışmamızda saptanan risk faktörlerinin sayıları değerlendirilmiş ve belirlenen risk faktörlerinden hepsine sahip olan bir hasta saptanmış ve risk faktörlerinin sayısı Tablo 7' de gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Saptanan risk faktörlerinin birlikte görülme sıklığı

Risk Faktörü Sayısı	n=77	%
2 tane	10 (13,0)	13,0
3 tane	25 (32,5)	32,5
4 tane	35 (45,5)	45,5
5 tane	6 (7,8)	7,8
6 tane	1 (1,3)	1,3



### 4.3. Antibiyotik Kullanma Özellikleri

*Clostridium difficile* enfeksiyonu yada kolonizasyonu açısından antibiyotik kullanılması başlıca risk faktörü olduğundan tedavi gördükleri süre içerisinde hastaların kullandıkları antibiyotiklerin çeşitleri incelenmiş ve bu antibiyotiklerin dağılımı ve Tablo 8’ de gösterilmiştir.

**Tablo 8.** Çalışmaya alınan hastaların kullandıkları antibiyotiklerin dağılımı

Antibiyotik	n=77	%
Ampisilin	39	50,6
Klindamisin	---	---
Sefalosporinler	23	29,9
Diğer	39	50,6

### 4.4. Pozitif Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 77 hastaya ait 104 numuneden yalnızca üç farklı hastaya ait numunede *Clostridium difficile* ToxinA/B pozitif sonuç saptanmış ve Tablo 9 da gösterilmiştir. Pozitif saptanan üç hastanında da 72 saatten uzun süreli hastanede yatan, alta yatan şiddetli hastalığı olan, yatışından itibaren antibiyotik ve mide koruyucu ilaç kullanan hasta olmaları bakımından dikkat çekmiştir.

**Tablo 9.** Pozitif ve negatif sonuçların dağılımı

Sonuç	n=77	%
Pozitif	3	3,9
Negatif	74	96,1

Çalışmaya alınan hasta örneklerinde pozitif sonuç elde edilen vakalar değerlendirildiğinde iki hastanın erkek, bir hastanın bayan ve yaş ortalamasının  $66,67 \pm 6,11$  olduğu görülmüş ve bu veriler tablo 10’ da gösterilmiştir.

**Tablo 10.** Pozitif ve negatif çıkan sonuçların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

	Özellik	Negatif (n=74)	Pozitif (n=3)
Yaş	(Ort±SS)	69,01±15,84	66,67±6,11
Cinsiyet	Erkek	35 (47,3)	2 (66,7)
	Kadın	39 (52,7)	1 (33,3)

Pozitif saptanan sonuçlara ait hastaların hastane yatış süresinin ortalama bir ay olduğu ve kardiyak ya da pulmoner tanılarıyla takip edildiği çalışmamızda saptanmıştır.

Çalışmamızda pozitif saptanan üç hastanın birisinin böbrek yetmezliği olduğu, birisinde serebrovasküler hastalık olduğu bir tanesinde ise malignite tanılı olduğu saptanmış ve tablo 11’ de gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Pozitif saptatan hastaların yatış tanılarına göre dağılımı

Tanı	Negatif		Pozitif	
	n:74	%	n:3	%
Serebrovasküler	12	16,2	1	33,3
Travma/yaralanma	6	8,1	---	---
Pulmoner	18	24,3	---	---
Kardiyak	5	6,8	---	---
Enfeksiyon	15	20,3	---	---
Malignite	2	2,7	1	33,3
Ameliyat	5	6,8	---	---
Böbrek yetmezliği	10	13,5	1	33,3
Deliryum	1	1,4	---	---

Pozitif saptanan hastaların altta yatan hastalıkları incelendiğinde iki tanesinin pulmoner bir tanesinin kardiyak problemler dolayısıyla tedavi aldığı saptanmıştır. Pozitif saptanan hastaların altta yatan hastalıklara göre dağılımı Tablo 12’ de gösterilmiştir.

**Tablo 12.** Pozitif saptanan hastaların altta yatan hastalıklara göre dağılımı

Altta yatan hastalık	Negatif		Pozitif	
	n	%	n	%
Yok	7	9,5	---	---
Serebrovasküler	9	12,2	---	---
Pulmoner	7	9,5	2	66,7
Kardiyak	31	41,9	1	33,3
Enfeksiyon	2	2,7	---	---
Malignite	7	9,5	---	---
Diabetes mellitus	2	2,7	---	---
Böbrek	7	9,5	---	---
Alzheimer/parkinson	1	1,4	---	---
Gebe	1	1,4	---	---

Pozitif saptanan her üç örnekte üç ayrı klinikte yatan hastada saptanmış olup, pozitif saptanan hastaların servislere göre dağılımı Tablo.13’de gösterilmiştir.

**Tablo 13.** Pozitif saptanan hastaların servislere göre dağılımı

Servis	Negatif (n=74)	Pozitif (n=3)
YBÜ	35 (47,3)	1 (33,3)
Dahili	32 (43,2)	1 (33,3)
Cerrahi	7 (9,5)	1 (33,3)

Pozitif saptanan hastaların örnek alma zamanları incelendiğinde bir hastada birinci haftada alınan örnekte, iki hastada ise beşinci hafta üzerinde alınan örnekte üreme olduğu saptanmış ve tablo 14’ de gösterilmiştir.

**Tablo 14.** Pozitif saptanan hastaların örnek alma zamanlarının dağılımı

Örnek Haftası	Negatif (n=74)	Pozitif (n=3)
1.hafta	32 (43,2)	1 (33,3)
2.hafta	25 (33,8)	-
3.hafta	18 (24,3)	-
4.hafta	14 (18,9)	-
5.hafta	12 (16,2)	2 (66,7)

Çalışmaya alınan hastalar risk faktörlerine göre değerlendirildiğinde en sık saptanan risk faktörünün antibiyotik kullanma olduğu saptanmış ve elde edilen sonuçlar tablo 15’te gösterilmiştir.

**Tablo 15.** Pozitif çıkan sonuçların risk faktörlerine göre değerlendirilmesi

Özellik	Negatif n (%)	Pozitif n (%)
Antibiyotik	74 (100)	3 (100)
65yaş üstü	48 (64,9)	2 (66,7)
Kanser	9 (12,2)	---
Üremi	20 (27,0)	---
Tüp	33 (44,6)	2 (66,7)
Mide koruyucu	74 (100)	3 (100)
GİS op	3 (4,1)	1 (33,3)

Pozitif saptanan hastalara ait sonuçlar belirlenen risk faktörlerine göre incelendiğinde, 60 yaşında bayan hastanın hipertansiyon ve solunum yetmezliği gibi altta yatan hastalıkları, antibiyotik tedavisi alma, mide koruyucu ilaç tedavisi alma, nazogastrik tüp varlığı ve GİS'e yönelik cerrahi girişim yapıldığı belirlenmiştir. Diğer pozitif saptanan hastalardan 72 yaşında erkek hastanında, altta yatan koroner arter hastalığı mevcut olduğu, antibiyotik ve mide koruyucu ilaç tedavisi aldığı ve yoğun bakım ünitesinde takipli ve hastaya nazogastrik ve endotrakeal tüp gibi invaziv girişimleri yapıldığı saptanmıştır. Pozitif saptanan üçüncü hastanın erkek ve 68 yaşında olduğu, kronik obstrüktif akciğer hastalığı mevcut olduğu, antibiyotik ve mide koruyucu ilaç tedavisi aldığı belirlenmiştir. Beş ve altı risk faktörü içeren hastaların hiç birinde pozitif sonuç saptanmamıştır.

**Tablo 16.** Pozitif saptanan örneklerin risk faktörleri sayısına göre dağılımı

<b>Risk Faktörü</b>	<b>Negatif (n=74)</b>	<b>Pozitif (n=3)</b>
2 tane	10 (13,5)	---
3 tane	24 (32,4)	1 (33,3)
4 tane	33 (44,6)	2 (66,7)
5 tane	6 (8,1)	---
6 tane	1 (1,4)	---

Belirlenen risk faktörleri içerisinde en sık *Clostridium difficile* infeksiyonuna neden olan antibiyotik kullanım hikayesi kendi içerisinde değerlendirildiğinde, çalışmaya alınan toplam 77 hastadan alınan 104 gaita örneği alındığı günlerde üç hastanın antibiyotik tedavisi almadığı, diğer hastaların antibiyotik tedavisi aldığı ve pozitif sonuç saptanan üç hastanın örnek alındığı günde ve öncesinde antibiyotik tedavisi aldığı saptanmıştır. Bu üç hastadan bir tanesinin sefalosporin grubu (seftriakson), iki tanesinin ise karbapenem grubu (meropenem) antibiyotikler kullandığı görülmüştür. *Clostridium difficile* pozitif saptanan hastaların kullandıkları antibiyotiklerin dağılımı Tablo 17’de gösterilmiştir.

**Tablo 17.** Pozitif saptanan örneklerin antibiyotik sayısına göre dağılımı

<b>Antibiyotik</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>
Ampisilin	39 (52,7)	---
Klindamisin	---	---
Sefalosporinler	22 (29,7)	1 (33,3)
Diğer	37 (50,0)	2 (66,7)

## 5. TARTIŞMA

*Clostridium difficile* mikrobiyolojisi ve epidemiyolojideki teknolojik gelişmelere rağmen asemptomatik *Clostridium difficile* kolonizasyonunun, epidemiyolojik özellikleri karmaşık ve zor bir sağlık sorunu olarak durmaktadır. *Clostridium difficile* ile enfeksiyonun oluşmasında kaynak endojen veya eksojen olabilir ancak endojen kaynaklı olgu nadirdir. Çünkü toplumda asemptomatik taşıyıcılık oranı düşüktür. Çoğu zaman kaynak, *Clostridium difficile* ile enfekte hasta ve çevresidir. Sağlıklı kişilerde *Clostridium difficile* taşıyıcılık oranı % 3 civarında iken, hastanede yatan, antibiyotik kullanan kişilerde taşıyıcılık oranının % 40' lara ulaştığı bildirilmektedir.<sup>82</sup>

Son üç ay içerisinde antibiyotik kullanma öyküsü olan veya 72 saat ve üzerinde hastanede yatışı olan kişilerde ishal geliştiğinde *Clostridium difficile* etken olarak düşünülmelidir. Mikroorganizma ve sporları tuvaletlerde, telefonlarda, steteskoaplarda, banyo zemininde ve hasta bakımıyla uğraşan sağlık personellerinin ellerinde izole edilmiştir. İnfeksiyonun gelişmesi için önemli risk faktörlerinden biri de kolonize yada enfekte olmayan kişilerin hasta ile aynı odayı paylaşmasıdır. Böylece hastadan-hastaya veya çevreden hastaya çapraz bulaş ile enfeksiyon gelişebilmektedir. Garcia ve ark. yaptıkları çalışmada nozokomiyal ishaller hastaların % 35.2'sinde *Clostridium difficile* ile ilişkili ishal tespit etmişler ve *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının hastane ortamında sık olarak yayıldığını göstermişlerdir.<sup>83</sup>

*Clostridium difficile*'ye bağlı ishallerin oluşmasına neden olan antibiyotik kullanımı dışında risk faktörleri ileri yaş, hastanede yatma ve altta yatan ciddi bir hastalığın varlığıdır. Yaşlı, altta yatan hastalığı olan ve hastaneye yatan hastalar antibiyotik de alıyorsa *Clostridium difficile* ile ilişkili hastalık gelişme olasılığı sekiz kat daha fazladır. Yoğun bakımda yatan, cerrahi işlem uygulanmış özellikle abdominal cerrahi yapılmış hastalar, yanık ünitesi ve onkolojide yatan hastalar *Clostridium difficile* enfeksiyonu/kolonizasyonu için en fazla risk altında olan diğer hastalardır. Kronik hastalığı olanların daha sık ve daha uzun süre hastanede yatmaları sebebiyle *Clostridium difficile* ile kolonize olma ihtimali artmaktadır.<sup>84</sup>

Ercis ve arkadaşları *Clostridium difficile* toksin A/B pozitif tespit ettikleri olguların %52,9'unda altta yatan bir hastalığın olduğunu, bunları da kronik obstrüktif solunum yolu hastalığı, böbrek yetmezliği ve kanser olarak belirlendiğini bildirmişlerdir.<sup>85</sup>

Altuğlu ve arkadaşları toksin A pozitif bulunan hastaların operasyon geçirmek, politravma, vaskülit, solid tümör, organik fosfat zehirlenmesi, beyin içi kanaması, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi nedenlerden dolayı yoğun bakımda yatmakta olduğunu tespit etmişlerdir.<sup>86</sup>

Mori ve arkadaşları 2015 yılında Japonyada yaptıkları klinik yetersizliğe bağlı *Clostridium difficile* infeksiyonunun yanlış tanısını araştırdıkları çalışmada; çalışma grubunun yaş ortalaması 67.5 ve %51.7 bayan hasta olduğu, altta yatan hastalıkları kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, diabete mellitus inflamatuvar bağırsak hastalığı, kronik böbrek hastalığı, serebrovasküler hastalık ve malignansi olarak saptamışlardır. Adı geçen çalışmada aynı hastalıkların görölme sıklığını sırasıyla %34.4, %19, %44.8, %25.9, %34.4, %27.6, %50 olarak tesbit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada hastaların son 60 gün içinde; ameliyat olduklarını, antibiyotiğe maruz kaldıklarını veya H2 reseptör blokeri yada proton pompa inhibitörü ilaç kullandıklarını tespit etmişler ve çalışma sonuçlarının kısa sürede ve tek bir tesiste yürütüldüğünden dolayı, Japon popölasyonunu temsil etmeyeceğini bildirmişlerdir.<sup>87</sup>

Loo ve arkadaşları hasta bakımı ve *Clostridium difficile* kolonizasyonu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları 123 hastanın yaş ortalamasının  $63.3\pm 14.7$  olduğu ve hastaların, antibiyotik kullanma, kemoterapi alma, proton pompa inhibitörü, H2 reseptör blokeri, glukokortikoid ve non steroid anti enflamatuvar kullandıklarını veya nazogastrik tüp uygulandığını saptamışlar ve hastaların % 2.5'inde yedi günde kolonizasyon geliştiğini bildirmişlerdir.<sup>88</sup>

Nissle ve arkadaşları geriatric hastalarda asemptomatik *Clostridium difficile* taşıyıcılığı, risk faktörleri ve prevalansını araştırdıkları çalışmalarında kolonizasyonun, semptomatik *Clostridium difficile* infeksiyonun gelişimi için çok önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmanın geriatric üniteye asemptomatik taşıyıcıların oranını (% 16.4) gösteren ilk çalışma olduğu ve en yüksek risk faktörlerinin önceki *Clostridium difficile* infeksiyonu epizodları, daha önce antibiyotik tedavisi ve yine daha önce hastanede yatarak tedavi olduğunu bildirmişler ve her altı kolonize hastadan birinin (%16.3) kalış süresince hastalandığı, diğer bir deyişle hastanede kalış süresince,



*Clostridium difficile* infeksiyonu geliştiren hastaların çoğunluğunun kolonize olduklarını (% 87.5) bildirmişlerdir.<sup>89</sup>

Nasreddin LM ve arkadaşları Ürdünde yaptıkları çalışmada üç günden fazla hastanede yatan 171 erkek ve 129 bayan hastada *Clostridium difficile* varlığını random olarak araştırdıkları çalışmada yaş ortalamasını 59,8 ve gaitada kültür pozitifliğini %13.7 olarak saptamışlar ve hastanede yatan hastalarda *Clostridium* infeksiyonunun erken tespit etmenin ve şiddetli hastalığın önlenmesinin gerekliliğini bildirmişlerdir.<sup>90</sup>

Ju Lin ve arkadaşları toksijenik *Clostridium difficile* araştırdıkları çalışmalarında cinsiyet yaş, vücut ağırlığı yada vücut kitle indeksi arasında istatistiksel fark bulamamışlar ve toksijenik *Clostridium difficile*'ye eşlik eden en sık hastalık olarak hipertansiyon (45.3%), diabetes mellitus (DM) (43.0%), and inme (33.7%) olarak bildirmişlerdir.<sup>91</sup>

Çalışmamızda *Clostridium difficile* ait toksin A ve toksin B pozitif saptadığımız üç hastanın da genel özellikleri incelendiğinde, birinci hastanın; 68 yaşında erkek hasta olduğu, dahiliye kliniğinde anemi ön tanısı ile yatarak tedavi gördüğü, altta yatan kronik obstrüktif akciğer hastalığı olduğu, yatışından beri sefalosporin grubu (seftriakson) antibiyotik ve mide koruyucu ilaç tedavisi aldığı, yatışının birinci haftası (5.ci gün) gaita örneği aldığımız hasta. Diğer hasta, yatışının beşinci haftası (60.cı gün) üzerinde örnek aldığımız 60 yaşında bayan hasta ve morbid obezite tanısı ile genel cerrahi kliniğinde yatıyor, gastrointestinal sisteme yönelik cerrahi girişim geçirdiği, altta yatan hipertansiyon ve solunum yetmezliği hastalıkları olduğu, yatışı esnasında nazogastik tüp takıldığı, karbapenem grubu (meropenem) antibiyotik ve proton pompa inhibitörü ilaç tedavisi aldığı belirlenen risk faktörlerini taşıdığı saptanmıştır. Üçüncü pozitif sonuç saptanan hasta ise 72 yaşında erkek hasta, anestezi ve reanimasyon ünitesinde hemorajik serabrovasküler olay tanısı ile yattığı, altta koroner arter hastalığının olduğu, tedavi süresince invaziv olarak nazogastrik tüp ve endotrakeal tüp işlemleri uygulandığı, yatışı boyunca sefalosporin grubu (seftriakson), aminoglikozid grubu (amikasin) ve karbapenem grubu (meropenem) gibi farklı antibiyotik tedavileri alan, örnek aldığımız hafta karbapenem grubu (meropenem) antibiyotik ve mide koruyucu proton pompa inhibitörü ilaç tedavisi alan, yatışının beşinci haftası (30.gün) üzerinde gaita örneği alındığı belirlenmiştir.

*Clostridium difficile* toksin A/B pozitif saptanan hastaların literatürde diğer çalışmalara benzer şekilde yaş ve cinsiyet gibi epidemiyolojik özellik saptanmasına rağmen, pozitif saptadığımız olgularla negatif saptanan hastalar arasında epidemiyolojik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Antibiyotiğe bağlı ishal olguları sıklıkla kendini sınırlama eğilimindedir. Klinik tablonun belirgin olduğu formlarda semptomlar genellikle kolonizasyondan hemen sonra başlar. Kolonizasyon antibiyotik tedavisi sırasında veya antibiyotik tedavisi kesildikten sonraki haftada gelişebilir. Kolonizasyondan sonra kuluçka döneminin ne kadar olduğu bilinmemekle beraber antibiyotik tedavisi başladıktan sonra bir haftadan daha kısa (4-7 gün ortalama 2 gün) olarak kabul edilir. Bununla beraber hastaların 1/3'ünde antibiyotik tedavisi kesildikten sonra da başlayabilir.<sup>92,93</sup>

Normal kişilerde yaklaşık % 1-3, hastanede yatanlarda % 20'den daha yüksek oranda asemptomatik bağırsak kolonizasyonu bildirilmektedir.<sup>94</sup>

*Clostridium difficile*'ye bağlı ishal oluşumunda en önemli risk faktörü antibiyotik kullanımıdır. Tedavi veya profilaksi amaçlı, kısa süreli bile olsa, oral, intravenöz veya intramüsküler antibiyotik kullanımı *Clostridium difficile* enfeksiyonunun gelişmesine neden olabilir. Tüm antibiyotikler hastalığın gelişiminde etkili olmakla beraber, *Clostridium difficile* ilişkili diyare ve kolit sıklıkla ampisilin, amoksisilin, sefalosporinler ve klindamisin gibi antibiyotiklerle ilişkilidir.<sup>95</sup>

*Clostridium difficile* enfeksiyonları önceleri klindamisin ile ilişkili kolit olarak tanımlanmış ancak bu klinik tablonun *Clostridium difficile* ile ilişkisi 1977 yılına kadar gösterilememiştir. Klindamisin kullanımının kısıtlanmasıyla enfeksiyonun azalması bu ilişkiyi güçlendirmiştir. Daha az sıklıkla, makrolidler, diğer penisilinler, tetrasiklinler, trimetoprim-sülfametoksazol, kloramfenikol, sülfonamidler, tikarsilin klavulanik asit enfeksiyona neden olan antibiyotiklerdir. Nadir olarak da kinolanlar, rifampisin, aminoglikozidler, vankomisin, metronidazol ve basitrasinin de enfeksiyona neden olabilmektedir. Ercis ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *Clostridium difficile*'ye bağlı ishalin, hastaların büyük bir kısmında (32/68) beta laktam - beta laktamaz inhibitörü antibiyotik kombinasyonlarının kullanımı sonucunda geliştiğini, bunu aminoglikozidlerin (12/68) ve sefalosporinlerin (8/68) izlediğini saptamışlardır.<sup>85</sup>

Altındış ve arkadaşları, *Clostridium difficile* toksin pozitif hastaların %84,6'sının ampisilin-sulbaktam, %7,7'sinin ise trimetoprim-sülfametoksazol ve makrolid antibiyotik kullandığını belirlemişlerdir.<sup>96</sup>

Altuğlu ve arkadaşları, toksin A pozitif bulunan hastaların beşinin üçüncü kuşak sefalosporin, birinin trimetoprim-sulfametoksazol ve birinin de siprofloksasin kullanmakta olduğunu saptamışlardır.<sup>86</sup>

Avustralya'da yapılan ve *Clostridium difficile* ile ilişkili ishal olgularının incelendiği epidemiyolojik bir çalışmada; üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımının kontrol altına alınması ile *Clostridium difficile* ilişkili ishal olgularının azaltılabileceği bildirilmiştir.<sup>97</sup>

Aygün ve arkadaşları, antibiyotik ile ilişkili ishal vakalarında *Clostridium difficile* toksin A/B pozitifliğini % 4.3 olarak belirlemişler ve bu düşük oranın kullanılan kitlerin farklılığına veya *Clostridium difficile* tanısının daha erken yapılıp, ampirik tedaviye erken başlanmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.<sup>98</sup>

Çalışmamızda yukarıda bildirilen diğer çalışmalara benzer şekilde *Clostridium difficile* toksin A/B pozitif saptanan hastaların üçününde beta-laktamaz inhibitörü antibiyotiklerden olan sefalosporin ve karbapenem grubu antibakteriyel ilaçlar ile tedavi edildiği ve bu dönemde kolonizasyon olduğu saptanmıştır. Ancak hastalarda daha önce *Clostridium difficile* varlığı açısından tarama yapılmamış olması da bu araştırmanın kısıtlılığı olarak karşımızda durmaktadır.

Doğru, güvenilir ve hızlı tanı özellikle hastane kaynaklı *Clostridium difficile* enfeksiyonunun kontrol altına alınması ve hasta takibi açısından önemlidir. *Clostridium difficile* enfeksiyonu tanısı, klinik özellikleri ve laboratuvar testleri temelinde olmaktadır. Sadece toksin A ve/veya toksin B üreten izolatların hastalık yapma yeteneğinin olmasından dolayı dışkı örneklerinden toksinlerin tespit edilmesi tanıda önemli bir kriterdir. Hastanede antibiyotik ile ilişkili ishal gelişen hastaların yaklaşık %30'unda neden *Clostridium difficile* olduğu için eğer uygun tanı testleri varsa, tanı testi yapmadan ampirik tedavi uygulanması uygun değildir. Hücre kültürü sitotoksisite yöntemi ve toksijenik kültür *Clostridium difficile* enfeksiyonu tanısında referans yöntemler olarak bilinmektedir.<sup>99</sup>

*Clostridium difficile* ait toksin belirlemede altın standart olarak kabul edilen sitotoksik testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olmasına rağmen pahalı olması, hücre kültür olanakları gerektirmesi ve fekal filtratın 24- 48 saat gibi uzun inkübasyonunun yapılması ayrıca tecrübeli personel gereksinimi olması gibi dezavantajları nedeniyle klinik uygulamalarda *Clostridium difficile* toksin A/B saptanmasında ELİSA yöntemi daha yaygın olarak pek çok laboratuvarında kullanılmaktadır.<sup>100</sup>

ELİSA yöntemi sitotoksin testi kadar duyarlı değildir fakat daha kolay, ucuz ve sonuçlar 2-6 saatte elde edilmektedir. Ancak kullanımda olan ELİSA ticari kitlerin çoğu toksin A'yı saptamaya yöneliktir. Sadece toksin A'yı çalışan testler ile, toksin A negatif/ toksin B pozitif suşlarla gelişen *Clostridium difficile* ishalinde tanı koyulamayacağından, tanı amacıyla toksin varlığının araştırıldığı testlerin, hem toksin A, hem de toksin B'yi içermesi gerekmektedir.<sup>101, 102, 103</sup>

Büyükbaba Boral 2003 yılında, yaptığı çalışmada *Clostridium difficile* ön tanısı ile laboratuara gönderilen 360 dışkı örneğinde sadece toksin A varlığı % 4.7 olarak belirlenirken, daha sonraki yıllarda yaptığı çalışmada 400 dışkı örneğinde toksin A/B varlığı % 12 olarak bildirmiştir. Bu farklı durumu toksin varlığının araştırılırken toksin A/B' yi birlikte içeren kitlerin kullanımına bağlamıştır.<sup>104</sup>

Bizim çalışmamızda ELİSA yöntemi kullanılarak *Clostridium difficile* ye ait hem toksin A ve hemde toksin B yi saptayan kitler kullanılmıştır.

Aseptomatik kolonizasyonda kalın bağırsaklar *Clostridium difficile* ile kolonizedir, ancak ishal gibi klinik bulgular oluşmamaktadır. Özellikle hastanelerin yüksek riskli bölümlerinde yatan ve antibiyotik alan hastaların %10-16'sı *C.difficile* ile kolonize hale gelebilmektedir. *Clostridium difficile*'ye bağlı ishal sıklığını araştırmak için ülkemizde yapılan çalışmalarda hastanede yatan hastalarda toksin A/B pozitifliğinin %3,2 ile %24 arasında olduğu bildirilmiştir.<sup>104, 105</sup>

Güzel-Tunçcan ve arkadaşları, 2008 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 74'ü nötroopenik ve 75'i non- nötroopenik toplam 149 olguda *Clostridium difficile* toksin A/ B sıklığını sırayla % 24,3 ve % 21,3 olarak belirlemişlerdir.<sup>106</sup>

Ju Lin ve arkadaşları *Clostridium difficili* araştırdıkları çalışmalarında toksijenik *Clostridium* varlığının %17.8 olarak saptamışlardır. Yine aynı çalışmada kolonizasyondan ishale geçiş süresi 55.6 gün olarak hesaplanmış ve kolonize izolatların diyareye neden olan izolatlar arasında genetik ilişki araştırmamasının yapılmamasını çalışmaların kısıtlılığı olarak belirtmişlerdir.<sup>91</sup>

Deniz ve arkadaşları, Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde yatan, ishalleri olan 633 hastanın dışkı örneklerinde enzim immunoassay testi ile toksin pozitiflik oranını % 4,7 olarak bildirmişlerdir.<sup>107</sup>

Bizim çalışmamızda *Clostridium difficile* ait toksin A/B pozitiflik oranı ELİSA yöntemiyle % 3.9 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptadığımız oranlar literatür bilgileriyle uyumlu olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak, *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının son zamanlarda tüm dünyada hem sıklığı hem de şiddeti artmıştır. Hastalığın risk faktörleri iyi bilinmekte olup, klinisyenlerin bu risk faktörlerine göre hastaları değerlendirmeleri önerilmektedir. Tanıda hızlı ve güvenilir testler mevcut olmasına rağmen optimal özgüllük sorunları yaşanabilmektedir. Bundan dolayı bu konuda yapılacak araştırmalarda farklı yöntemler kullanılarak karşılaştırmalar yapılması çok yerinde olacaktır. Ayrıca bizim çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olan örneklem grubunun az olmasını giderecek, çok daha fazla sayıda örneklem grubu oluşturularak inceleme yapılmasını hatta çok merkezli çalışmaların yapılmasının faydalı olacağına düşünmekteyiz.

Sonuçlarımız, hastanemiz ve bölgemizden bildirilen ilk veriler olması, *Clostridium difficile* kökenlerinin toksinlerinin varlığının saptanması yönünden veri tabanı oluşturması açısından önemlidir. Bu konuda yapılmış çalışmaların son derece kısıtlı olduğu ülkemizde verilerimizin, diğer çalışmalara da katkı sağlayacağına inanıyoruz.

## 6. SONUÇLAR

65 yaş ve üstü, antibiyotik kullanma, malignitenin olması, nazogastrik tüp ve endotrakeal tüp uygulaması, anti ülser ilaç tedavisi alıyor olması, hastanede yatış süreleri bakımından toksin negatif ve pozitif gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Bunun sebebinin toksin pozitif gruptaki hasta sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. *Clostridium difficile* hastanede yatan ve başta antibiyotik kullanan hastalarda gelişen ishallerde öncelikle akla gelmelidir. Tanı için toksin oluşumunun gösterilmesi gereklidir. Rutin laboratuvarlarda *Clostridium difficile* toksin tespiti için duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan EIA testleri veya immunokromotografik yöntemler tercih edilebilir. Böylece toksin pozitif hastalar belirlenerek bulaşmayı önlemek için izole edilmesi ve uygun tedavi alması sağlanır. Aynı zamanda çevresel hijyen, el yıkama ve eldiven kullanma gibi enfeksiyon kontrol önlemleri alınarak *Clostridium difficile*'nin hastane ortamında hastalar arasında yayılımı önlenmiş olacaktır.

Son yıllarda sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar arasında önemi fark edilen *Clostridium difficile* yoğun bakım üniteleri ve kliniklerde salgınlara neden olabilmektedir.

Hastalık gelişmeden önce yapılması gereken en önemli uygulama, gereksiz antibiyotik kullanımından kaçınma, antibiyotik kullanımının kısıtlanması, mümkün olan en dar spektrumlu antibiyotiğin kullanılması gibi akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine dikkatli bir şekilde uyulmasıdır. Hastane enfeksiyonları için geçerli olan standart korunma ve kontrol önlemleri, *Clostridium difficile* enfeksiyonları için de uygulanmalıdır. İnfeksiyon gelişme riski olan hastalar, laboratuvar tanısının kesinleşmesi beklenmeden temas izolasyonuna alınmalıdır. *Clostridium difficile* tanısı olan hasta, tuvalet ve banyosu olan tek kişilik özel odaya alınmalıdır. Eğer bu mümkün değilse aynı tanılı hastaların bulunduğu odaya yatırılmalıdır. Ziyaretçi ve personel teması en aza indirilmeli, temas edenlerin eldiven, önlük ve el yıkama gibi standart önlemlere uyması sağlanmalıdır.

Sağlık personelinde izole edilmesede sağlık personelinin taşıyıcılıkta önemli rol oynadığı, bunun için sağlık personelinin hijyene özellikle el hijyenine dikkat etmesi, hasta ile temas öncesi ve sonrası ellerini su ve antiseptik içerikli sıvı sabun ile yıkaması gerekmektedir. Alkol bazlı el dezenfektanları *Clostridium difficile* sporlarına karşı etkili olmadığından su ve sabunla yıkanarak el hijyeni sağlanmalıdır.

Kontamine ve kontamine olma olasılığı olan tüm yüzeyler (yatak başları, sandalyeler, korkuluklar, parmaklıklar, elektrik düğmeleri, telefon, pencere ve kapıkolları, sürgü, ördek, tıbbi ekipmanlar), daha sık gerekmedikçe, günde bir kez temizlenmelidir. Çevre temizliğinde, 1/100'lük hipoklorid çözeltilerinin kullanılması etkindir. Sprey şeklinde uygulanan dezenfektanlar kullanılmamalıdır. Temizlik bezleri sık değiştirilmelidir. Rutin temizlik sonrası riskli temas bölgelerinin hipoklorid içeren ürünlerle temizlenmesi gerekebilir. Oda zemini, *Clostridium difficile* bulaşında önemli bir kaynak değildir. Bu nedenle rutin temizlik uygulamaları dışında özel bir dezenfeksiyon gerekmez. Hasta odasının dezenfeksiyonu, semptomlar tam düzeldiğinde veya hasta taburcu olduğunda yapılmalıdır. Hasta naklinden önce ilgili klinikler bilgilendirilmeli, gerekli izolasyon ve temas önlemlerine uyulmalıdır.

Diyarenin düzelmesinden en erken 48 saat sonra temas izolasyonu sonlandırılabilir. İzolasyon süresini belirlemede *Clostridium difficile* toksin izlemine gerek yoktur. Anaerob koşulların sağlanamadığı ve kültür yönteminin uygulanması zor ve yavaş bir tanı testi olması nedeniyle, laboratuvarlarda EIA yönteminin güvenilir, kolay, ucuz ve hızlı sonuç alınması nedeniyle kullanımının uygun olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak; antibiyotiğe bağlı ishal vakalarında *Clostridium difficile* araştırılması gereken bir patojendir.

Çalışmamızda, çalışmaya alınan 77 hastaya ait 104 numuneden yalnızca üç hastaya ait birer numunede *Clostridium difficile* ToxinA/B sonucu pozitif saptanmış olup *Clostridium difficile* ait toksin A/B pozitiflik oranı ELİSA yöntemiyle % 3.9 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptadığımız oranlar literatür bilgileriyle uyumlu olarak saptanmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Görenek L, Beşirbellioğlu B. Antibiyotik kullanımının diğer bir yüzü *Clostridium difficile*'ye bağlı ishal. *Sendrom* 1997; **9** (10): 87-94.
2. Kıyan M. Anaerob, gram pozitif, sporlu basiller. İn: Ustaçelebi Ş. (Editor). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ankara: Ankara Güneş Tıp Kitabevi; 2005. p 623-50.
3. Taşova Y. Psödomembranöz enterokolit ve *Clostridium difficile*. İn: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S.(Editors). Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. İkinci baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2012.453-87.
4. Tabaqchalli S, Jumaa P. Editors. Diagnosis and Management of *Clostridium difficile* Infection. *BMJ* 1995; 310 (27): 1375-1380.
5. Karaer P, Yarkın F, Alhan E. ve ark. İshalli ve Asemptomatik Kişilerin Dışkılarında *Clostridium difficile* ve Toksinleri ile Diğer Enterik Patojenlerin İnsidansı. *Ç Ü Tıp Fak Derg* 1996; **21**: 88-95.
6. Bilgehan H.(Editor). Gram Olumlu Sporlu Basiller. Klinik Mikrobiyoloji. Sekizinci baskı. 1994: 282-311.
7. Ondedonk A. B, Allen S. D. Clostridium. İn : Murray P. R, Baron E, Pfaller M. A, Tenover F. C, Tenover F. C, Tenover R. H. Manual of Clinical Microbiology.Sixth edition, Washington D. C. : American Society for Microbiology, 1995; 574-586.
8. Drudy D, Fanning S, Kyne L. Toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile*. *Int J Infect Dis*, 2007; 11:5-10.
9. Geric B, Rubnik M, Gerding DN, Grabnar M, Johnson S. Distribution of *Clostridium difficile* variant toxinotypes and strains with binary toxin genes among clinical isolates in an American hospital. *J Med Microbiol* 2004; 53: 887-94
10. Salyers AA, Whitt DD. (eds). Pseudomembranous Colitis. Bacterial Pathogenesis A Moleculer Approach. American Society for Microbiology, Washington DC, 1994; 282-289.



11. Pothoulakis C, Tradafilopoulos G, Clark M, Franzblau C, Lamont J.T. *Clostridium difficile* cytotoxin inhibits protein synthesis in fibroblasts and intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1986; 91: 1147-1153.
12. Ottlinger M. E, Lin S. *Clostridium difficile* toxin B induces reorganization of actin, vinculin and talin cultured cells. *Exp. Cell Res.* 1988; 174: 215-229.
13. Johnson S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: a review of risk factors, treatments and outcomes. *J Infect* 2009; 58(6): 403-10.
14. Hurley BW, Nguyen CC. The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea. *Arch Intern Med* 2002; 162: 2177-2184.
15. Kimmey MB, Elmer GW, Surawicz CM, McFarland LV. Prevention of further recurrences of *Clostridium difficile* colitis with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 897-901.
16. Kyne L, Farrell RJ, Kelly CP. *Clostridium difficile*. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 753-77.
17. Wilson K.H, Kennedy M. J, Fekety R. et al. Use of sodium taurocholate to enhance spore recovery on a medium selective for *C.difficile*. *J.Clin. Microbiol* 1982; 15 (3): 443-446.
18. Clabots CR, Johnson S, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: Evidence for colonized new admissions as a source of infection. *J Infect Dis* 1992; 166:561-7.
19. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infections. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 405-410.
20. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile* infection. *Annu Rev Med.* 1998; 49:375-90.

21. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, et al. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(3): 529-49.
22. Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I; European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD). Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(11): 1048-57.
23. Söyletir G, Topçu A. W. Akut bakteriyel ishaller. Topçu A. W, Söyletir G, Doğanay M.(Editors). Enfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;1996; 605-618.
24. Gerding D.N, Olson M. M, Peterson L. R, Teasley D. G, Gebhard R.L, Schwartz M. L, Lee J.T. *Clostridium difficile* associated diarrhea and colitis in adults. *Arch. Intern. Med* 1986; 146: 95-100.
25. Bartlett J. G. *Clostridium difficile: Clinical considerations. Rev. Infect Dis.* **12** (suppl 2) 1990 : 243-251.
26. Knoop F.C. , Owens M. , Crocker I.C. *Clostridium difficile: Clinical disease and dianosis. Clin. Microbiol. Rev* 1993; **6** (3) : 251-265.
27. Giannasca PJ, Warny M. Aktive and passive immunization against *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. *Vaccine* 2004; 22: 848-856.
28. Poxton IR, Mc Coubrey J, Blair G. The pathogenicity of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 2001; **7**: 421-427.
29. Rupnik M. How to detect *Clostridium difficile* variant strains in a routine laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2001; **7**: 417-420.
30. Kyne L, Farell RJ, Kelly CP. *Clostridium difficile. Gastroenterol Clin North Am* 2001; **3**:753-777.

31. Yasin SF, Young-Fadok TM, Zein NN, Pardi DS. et al. *Clostridium difficile*-Associated diarrhea and colitis. *Mayo Clin Proc* 2001; **76**: 725-730.
32. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile* infection. *Ann Rev Med* 1998; 49: 375-390.
33. Johnson S, Gerding DN, Olson MM, et al. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. *Am J Med* 1990; 88: 137-40.
34. Kelly C. P. , Pothoulakis C. , LaMont J. T. *Clostridium difficile* colitis. *N. Engl. J. Med* 1994; **330** (4): 257-262.
35. Johnson S, Gerding D. *Clostridium difficile*. In: Mayhall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 624-34.
36. Wistrom J, Norrby SR, Myrhe EB, et al. Frequency of antibiotic associated diarrhoea in 2642 antibiotic-treated hospitalized patients: A prospective study. *J Antimicrob Chemother* 2001;47: 43-50.
37. McFarland L. Update on the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008;5: 40-8.
38. Mylonakis E, Ryan ET, Calderwood SB. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Arch Intern Med* 2001; 161: 525-533.
39. Fry DE. *Clostridium difficile* infection. In: Moellering RC. ed. *Emerging Pathogens: Implications for the Future*. Montreal: PharmaLibri Publishers, 2000; 51-75.
40. Collee JG, Brown R, Poxton IR. Clostridia of wound infection. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, eds. *Practical Medical Microbiology*. 14th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1996; 511-547.
41. Baylan O, Doğançılı L, Gün H. Klinik ve Mikrobiyolojik açıdan *Clostridium difficile*. *Sendrom* 1998; 10: 71-6.

42. Collee JG, Brown R, Poxton IR. Clostridia of wound infection. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, eds. Practical Medical Microbiology. 14th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1996; 511-547.
43. Fecety R. Antibiotic-associated colitis. In: Mandell G. L. ,Douglas R.G. Bennet J.E. Principles and Praticce of Infectious Disease. Third edition, New York: Churhill Livingstone, 1990; 863-880.
44. DiPersio J.R, Varga F.S, Conwell D.L, Kraft J. A, Kozak K. J, Willis D. H. Development of a rapid enzyme immunoassay for *Clostridium difficile* toxinA and its use in the diagnosis of *C.difficile*-associated disease. *J. Clin. Microbiol* 1991; **29** (12): 2724-2730.
45. Theilman NM: Antibiotic associated colitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone, 2000; 1111-21.
46. Sullivan N. M, Pellet S, Wilkins T.D. (eds). Purification and characterization of toxin A and B of *Clostridium difficile*. *Infect. Immun.* 1982; 35 (3):1032-1040.
47. Lyerly DM. Howard CK. Wilkins TD. *Clostridium difficile*: it's disease and toxins. *Clin Microbiol Rev*, 1988; **1**: 1-18.
48. Barlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. *N Eng J Med* 2002; 346: 334-339.
49. Manabe YC, Vinetz JM, Moore RD, Merz C. Charache P. Barlett JG. *Clostridium difficile* colitis: an efficient clinical approach to diagnosis. *Ann Intern Med* 1995; 123: 835-840.
50. Vanpoucke H, De Baere T, Claeys G, Vaneechoutte M, Verschraegen G. et al Evaluation of six commercial assays for the rapid detection of *Clostridium difficile* toxin and/ or antigen in stool specimens. *Clin Microbiol Infect* 2001; **7**: 55.

51. Doern G. V. , Coughlin R. T. , Wu L. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* associated gastrointestinal disease: Comparison of a monoclonal antibody enzyme immunoassay for toxin A and B with a monoclonal antibody enzyme immunoassay for toxin A only and two cytotoxicity. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30 (8): 2042-2046.
52. Liensfeld O. , Saeger F. Hahn H. Detection of *Clostridium difficile* toxin by enzyme immunoassay, tissue culture test and culture. *Infection*, 1994; **22**: 33-36.
53. Huovinen P. , Raiba I. , Vuento R. , Eerola E. , Lehtonen A. False-positive *Clostridium difficile* latex agglutination tests. *Lancet* 1990; 335: 1467-1468.
54. Sherman M. E. , Deirolami P. C. , Thorne G. M. , Kimber J., Eichelberger K. Evaluation of a latex agglutination test for diagnosis of *Clostridium difficile* associated Colitis. *Am. J. Clin. Pathol.* 1988; 89: 228-233.
55. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annu Rev Microbiol* 2011; 65: 501-21.
56. Fedorko DP, Engler HD. O'Shaughnessy EM, Williams EC, Reichelderfer CJ, Smith WI. Evaluation of two rapid assays for detection of *Clostridium difficile* Toxin A in stool specimens. *J. Clin Microbiol* 1999; 37: 3044-3047.
57. Alfa MJ, Swan B, VanDekervhove B, Pang P, Harding GK. The diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea: comparison of Triage *Clostridium difficile* panel, EIA for Tox A/B and cytotoxin assays. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 257-263.
58. Wolfhagen M. J. , Fluit A. C. H. M. , Torensma R. Rapid detection of toxigenic *Clostridium difficile* in fecal samples by magnetic immuno PCR assay *J. Clin. Microbiol.* 1994; **32** (7): 1629-1633.
59. Aygün G, Aslan M, Yaşar H, Atlaş K. Hastanede yatarken gelişen ishal hastalarında *Clostridium difficile* toksin A+B araştırılması. *ANKEM Derg.* 2002; 16: 82-84.

60. Mülazımoğlu L. Antibiyotiğe bağlı ishal. *KLİMİK Derg.* 1996; **9** (1) :13-14.
61. Nonhoff C, Struelens MJ, Serruys E. Evaluation of gas-liquid chromatography (GLC) for rapid detection of *Clostridium difficile* in fecal specimens. *Acta Clin*, 1995; 50: 76-80.
62. Malnick SDH, Zimhony O. Treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Ann Pharmacother*, 2002; 36: 1767-1775.
63. Bergogne-Berezin E. Treatment and prevention of Antibiotic Associated diarrhea. *Int J Antimicrob Agents*, 2000; 16: 521-526.
64. Kyne L, Kelly CP. Recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Gut*, 2001; 49: 152-53.
65. Yılmaz R, Çevik A, Ünal S. *Flora Derg.* 2000; 5 (2):11.
66. Muto CA, Pokrywa M, Shutt K, et al. A large outbreak of *Clostridium difficile* associated disease with an unexpected proportion of deaths and colectomies at a teaching hospital follwing increased floroquinolone use. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 273-80.
67. Boyce JM, Ligi C, Kohan C, Dumigan D, Havil NL. Lack of association between the increased incidence of *Clostridium difficile*-associated disease and increasing use of alcohol-based hand rubs. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27: 479-83.
68. Centers for Disease Control and Prevention. Information for healthcare providers. Updated 22 July 2005. Available at: [http:// www. cdc. gov/ nci dod/ dhqp/ id CdiffFAQ HCP. html](http://www.cdc.gov/nci/dod/dhqp/id/CdiffFAQ_HCP.html). Accessed 5 March 2007.
69. Owens RC. *Clostridium difficile*-associated disease: An emerging threat to patient safety: insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy* 2006; 26: 299-311.

70. Bobulsky GS, AI-Nassir WN, Riggs MM, Sethi AK, Donskey CJ. *Clostridium difficile* –skin contamination in patients with *Clostridium difficile*-associated disease. Clin Infect Dis 2008; 46: 447-50.
71. Fletcher K, Cinalli M. Identification, optimal management and infection control measures for *Clostridium difficile* associated disease in long term. Geriatr Nurs 2007; 28: 171-81.
72. McFarland L, Beneda H, Clarridge J, Raugi G. Implications of the changing face of *Clostridium difficile* disease for health care practitioners. Am J Infect Control 2007;35: 237-53.
73. Karabey S, Çetinkaya Şardan Y, Alp E, Ergönül Ö, Esen Ş, Kaymakçı H. El Hijyeni Klavuzu. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008.
74. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. N Engl J Med 1989;320:204-10.
75. Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC, Arbeit RD, Karchmer AW. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. Am J Med 1996;100:32-40.
76. Mayfield JL, Leet T, Miller J, Mundy LM. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis 2000;31: 995-1000.
77. Johnson S, Clabots CR, Linn FV, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Nosocomial *Clostridium difficile* colonisation and disease. Lancet 1990; 336: 97-100.
78. Shim JK, Johnson S, Samore MH, Bliss DZ, Gerding DN. Primary symptomless colonisation by *Clostridium difficile* and decreased risk of subsequent diarrhoea. Lancet 1998;351:633-6.
79. Gerding DN, Muto CA, Owens RC Jr. Measures to control and prevent *Clostridium difficile* infection. Clin infect Dis 2008; 46:43-9.

80. O'Connor KA, Kingston M, O'Donovan M, Cryan B, Twomey C, O'Mahony D. Antibiotic prescribing policy and *Clostridium difficile* diarrhoea. QJM 2004;97: 423-9.
81. Makris A, Gelone S. *Clostridium difficile* in the long term care setting. J Am Med Dir Assoc, 2007; 8: 290-9
82. Hookman P, Barkin JS. *Clostridium difficile* associated infection, diarrhea and colitis, *World J Gastroenterol* 2009; 15(13): 1554-80.
83. Garcia C, Samalvides F, Vidal M, Gotuzzo E, Dupont HL. Epidemiology of *Clostridium difficile* associated diarrhea in a Peruvian tertiary care hospital, *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77(5): 802- 5.
84. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile* associated infections. *Clin Microbiol Infect*, 2001; 7(8): 405-10.
85. Ercis S, Ergin A, Haşçelik G. *Clostridium difficile*'ye bağlı ishal olgularının 6 yıllık değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 2004; 38(1-2): 45-50.
86. Altuğlu İ, Aydemir Ş, Zeytinoğlu A, Erensoy S, Bilgiç A. Antibiyotikle ilişkili nozokomiyal diyarelerde *Clostridium difficile* Toksin A araştırılması. *Turkish Journal of Infection*. 2001; 15(4): 495-7.
87. Mori N, Yoshizawa S, Tomoo Sag T, Ishii Y, Murakami H, Iwata M. Incorrect diagnosis of *Clostridium difficile* infection in a university hospital in Japan 2015; 718-722.
88. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, Toye B, Beaudoin A. Host and Pathogen Factors for *Clostridium difficile* Infection and Colonization. *N Engl J Med*. 2011;365:1693-703.
89. Nissle K, Kopf D, Rösler A. Asymptomatic and yet *Clostridium difficile*-toxin positive? Prevalence and risk factors of carriers of toxigenic *Clostridium difficile* among geriatric in-patients. Nissle et al. *BMC Geriatrics* 2016;16:185.



90. Nasereddin LM, Bakri FG, Shehabi AA. *Clostridium difficile* infections among Jordanian adult hospitalized patients. *Am J Infect Control* 2009; 37:864-6.
91. Ju Lin H, Pin Hung Y, Chuan Liu H, Chieh Lee J, I Lee C, Hui Wu Y, Jane Tsai P, Chien Ko W. Risk factors for *Clostridium difficile* associated diarrhea Among hospitalize dadults with fecal toxigenic *Clostridium difficile* Colonization. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2015; 48: 183-189.
92. Coté GA, Buchman AL. Antibiotic-associated diarrhoea. *Expert Opin Drug Saf*, 2006; 5(3): 361-72.
93. Aygün G. Antibiyotiğe Bağlı İshaller. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. Cilt 2, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1087-93.
94. Gasperino J, Garala M, Hillel W Cohen, Kvetan V, Currie B. Investigation of critical care unit utilization and mortality in patients infected with *Clostridium difficile*, *J Crit Care*, 2010;25(2):282- 6.
95. Kelly CP, LaMont T. *Clostridium difficile* infection. *Annu Rev Med*, 1998; 49:375-90.
96. Altındış M, Usluer S, Çiftçi İH, Tunç N, Çetinkaya Z, Aktepe OC. Antibiyotiğe bağlı ishal olgularında *Clostridium difficile* varlığının kültür ve toksin saptama yöntemleriyle araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 2007; 41(1): 29- 37.
97. Thomas C, Stevenson M, Williamson DJ, Riley TV. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: Epidemiological data from Western Australia associated with a modified antibiotic policy. *Clin Infect Dis*, 2002; 35(12): 1457-62.
98. Aygün G, Aslan M, Yaşar H, Altaş K. Antibiyotikle ilişkili ishal olgularında *Clostridium difficile* toksin A+B araştırılması, *Turk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33(1): 39-41.
99. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al; Society for Healthcare Epidemiology

of America; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010; 31(5): 431-55.

100. Özinel MA. Hastane infeksiyonu etkeni olarak *Clostridium difficile*. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2001; 5(3): 251-4.
101. Samra Z, Talmor S, Bahar J. High prevalence of toxin-A negative, toxin-B positive *Clostridium difficile* in hospitalized patients with gastrointestinal disease, *Diag Microbiol Infect Dis* 2002; 43(3): 189-92.
102. Shin BM, Kuak EY, Lee EJ, Songer JG. Algorithm combining toxin immunoassay and stool culture for diagnosis of *Clostridium difficile* infection, *J Clin Microbiol* 2009; 47(9): 2952-6.
103. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile* associated diarrhea in adults, *CMAJ* 2004; 171(1): 51-8.
104. Büyükbaba Boral Ö. *Clostridium difficile* infeksiyonu ön tanılı hastaların dışkı örneklerinde toksin A ve B'nin belirlenme sıklığı, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 32 (3-4): 220-4.
105. Lale Z, Doğruman Al F, Fidan I, Adıyaman G, Yeşilyurt E, Özkan S, et al. İshalli hastaların dışkı örneklerinde *Clostridium difficile* toksin A/B sıklığının araştırılması. *ANKEM Derg*, 2013; 27(2): 55-9.
106. Güzel- Tunçcan Ö, Ulutan F, Karakuş R. Antibiyotiğe bağlı ishal gelişen nütropenik ve nütropenik olmayan hastalarda *Clostridium difficile* toksin sıklığı ve risk faktörlerinin analizi, *Mikrobiyol Bul* 2008; 42(4); 573- 83.
107. Deniz U, Ülger N, Aksu B, Karavuş M, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesinde yatan ishalli hastalardan izole edilen *Clostridium difficile* kökenlerinde toksin genlerinin araştırılması, *Mikrobuyol Bul* 2011; 45(1):1-10.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

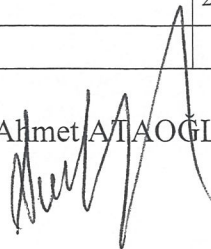
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hastanede uzun süreli yatan hastalarda <i>Clostridium difficile</i> kolonizasyonunun araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Düzce Üniversitesi Tıp Fak. Morfoloji Binası 4. Kat Konuralp-Düzce
	TELEFON	0380 542 14 16
	FAKS	0380 542 13 02
	E-POSTA	duzceetik@duzce.edu.tr

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Şükrü ÖKSÜZ				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI					
	DESTEKLEYİCİ					
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)					
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ					
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>				
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>				
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>				
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>				
	Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	29.12.2014		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	29.12.2014		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ahmet ATAÖĞLU  
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

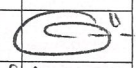
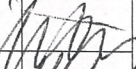
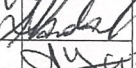
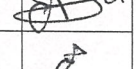

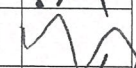
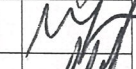
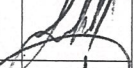





## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hastanede uzun süreli yatan hastalarda <i>Clostridium difficile</i> kolonizasyonunun araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

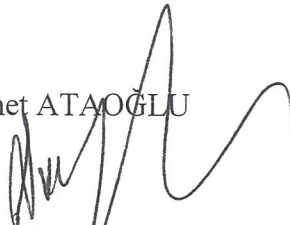
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
<b>DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>		<b>Açıklama</b>
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	700000
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>	
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar No:2014/118	Tarih: 17.02.2015	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

<b>KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>	
<b>ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI</b>	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
<b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:</b>	Prof. Dr. Ahmet ATAÖĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hüseyin YÜCE	Tıbbi Genetik	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İlhan MAVIOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Handan ANKARALI	Biyoistatistik	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Erol AYAZ	Tıbbi Parazitoloji	Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet YAŞAR	Genel Cerrahi	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Seyit ANKARALI	Fizyoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mete ÇAĞLAR	Kadın Doğum	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Zeynep Melisne YAVUZ	Farmakoloji	İzzet Baysal Devlet Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mustafa Salih EROL	Elektronik Mühendisi Biyomedikal Teknikeri	Düzce Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Sultan Ahmet DURDU	Sivil Üye	İş Adamı	E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Şerife SÜLEK	Avukat		E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ahmet ATAÖĞLU  
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## ÖZGEÇMİŞ

14.10.1976 yılı Sakarya/ Kaynarca doğumluyum. İlk ve ortaöğrenimimi Kaynarca'da tamamladım. 1996 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu'ndan mezun oldum ve hemşire olarak çalışmaya başladım. 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesini ve Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi'ni bitirdim, halen Düzce Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Enfeksiyon Kontrol Komite Hemşiresi olarak görev yapmaktayım.

