

Escherichia coli diyarelerinin patogenezindeki son gelişmeler

Dr. İ. Halil ÖZEROL*

Dr. Hatice ÖZBİLGE*

Diyare yapan *E. coli* lerin en az beş farklı patogenetik mekanizma ile hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) ve enteropatogenik *E. coli* (EPEC) non-inflamatuvar diyarelere neden olurken enteroinvazif *E. coli* (EIEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ve enteroagregatif *E. coli* (EAggEC) inflamatuvar diyarelere neden olmaktadır. ETEC, infantlarda ve turistlerde koleraya benzer diyarelere neden olur. EPEC, infant ve yenidoğanlarda yaz ishallerinin önemli bir nedenidir. ETEC, proksimal ince bağırsak mukozasına bağlanır. Isıya labil ve ısıya stabil (LT ve ST) toksinlerden biri veya ikisini salgılayarak diyareye neden olur. EPEC, proksimal ince bağırsak epitelyal hücrelerine saldırarak buradaki mikrovillusları yokedebilir (saldırma ve yoketme fenomeni). EHEC, kolondaki enterositlere bağlanır, endositozla hücre içine girer ve burada çoğalır. Kolon mukozasında nekroz ve soyulmalar meydana gelir. *Shigella* dizanterisine benzeyen fakat genellikle daha hafif tipte dizanteriye neden olur. EHEC, terminal ileum ve kolon mukozasında saldırma-yoketme fenomeni oluşturur ve Shiga-like toksinleri üretir. EHEC'in predominant bir serotipi olan *E. coli* O157:H7, epidemik veya endemik hemorajik kolitlere neden olur. Ayrıca, SLT vasküler endotel hücrelerinde hasara yol açar ve hemolitik üremik sendroma neden olabilir. EAggEC, akut ve persistan diyarelere neden olan yeni bir patojendir. Hemorajik nekroz nedeniyle kolondaki villusların küntleşmesi veya yokedilmesine rağmen kesin patogenetik mekanizması bilinmemektedir. Spesifik tanı patogenetik özelliklerin, patogenetik genlerinin veya gen ürünlerinin gösterilmesine bağlıdır. Günümüzde, bu testlerin rutin diyagnostik amaçlarla kullanılması tavsiye edilmez fakat akut ve kronik diyare etyolojisinin izlenmesinde çok yararlı olmaktadır. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 2(1):86-102, 1995]

Anahtar Kelimeler : Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enteroinvazif *E. coli* (EIEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAggEC)

Recent advances in the field of pathogenesis of diarrhoea caused by Escherichia coli

Diarrhogenic *Escherichia coli* has been shown that at least five different pathogenic mechanisms are used to cause disease. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) produce a non-inflammatory diarrhoea, whereas enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) produce an inflammatory diarrhoea. ETEC causes an acute cholera-like diarrhoea in infants and travellers. EPEC is a major cause of summer diarrhoea in infants and neonatal diarrhoea. ETEC produce diarrhoea by attaching to the proximal small intestinal mucosa and elaborate one or both of heat labile and heat stable toxins. EPEC is capable of attaching intimately to the proximal intestinal epithelial cells and effacing their microvilli (attaching-effacement phenomenon). EIEC attach to colonic enterocytes, penetrate by an endocytotic mechanism and replicate therein. This results in necrosis and stripping of large areas of colonic mucosa and a dysentery similar to but usually less severe than *Shigella* dysentery. EHEC produce attaching-effacement to the terminal ileal and colonic mucosa and release the Shiga-like toxins (SLTs). *E. coli* O157:H7, the predominant serotype of EHEC, is a cause of both outbreaks and sporadic cases of haemorrhagic colitis. In addition, SLT can damage vascular endothelial cells, leading to haemolytic uraemic syndrome. EAggEC is a new pathogen causing acute and persistent diarrhea in children. They damage and blunt colonic villi by haemorrhagic necrosis, although the precise pathogenic mechanisms are unclear. Specific diagnosis depends upon demonstration of the pathogenicity trait, and the pathogenicity genes or their gene products. At present, to undertake such testing is not recommended for routine diagnosis but is most useful when surveys of the aetiology of acute and chronic diarrhoea are undertaken. [Journal of Turgut Özal Medical Center 2(1):86-102, 1995]

Key Words : Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteroaggregative *E. coli* (EAggEC)

* : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı - Malatya

1950'lerde, temel biyolojik olayları inceleyen bilim adamlarınca, sistem modeli olarak serbest yaşayan, basit bir mikroorganizmanın seçilmesi kararlaştırılmış, daha sonra mikroorganizma modeli olarak *E.coli* seçilmiş ve bunun üzerinde yoğun araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalar sonunda, *E.coli* türlerinin; kullandığı metabolik yollar, genetik regülasyon, sinyal iletimi, hücre duvarı yapısı ve hatta bakteriyel konjugasyon formunda cinsiyet özellikleri belirlenmiş, akla gelen her alanda model olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır. *E.coli* türleri, dünyanın her tarafında insan ve hayvanlarda yaygın infeksiyonlara neden olur (Tablo 1). Bu nedenle, yakın zamanlara kadar patojen *E.coli* üzerindeki çalışmalar devam etmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, *E.coli* virülans faktörleri ve patogenezi hakkındaki bilgilerimiz her geçen gün daha da artmaktadır.

E.coli türleri; diyare, dizanteri, mesane ve böbrek infeksiyonları, bakteriyel sepsis, pnömoni, hemolitik üremik sendrom, neonatal menenjit ve turist ishalleri gibi çeşitli hastalıkların etkenleridir. *E.coli*'lerin büyük çoğunluğu gastrointestinal traktusta bulunur. Bir gram feceste 10^7 - 10^8 *E.coli* bulunmaktadır. Neonatal menenjit ve gastroenterit dışındaki infeksiyonlar endojendir. Yani, konak savunma mekanizmalarını bozan şartlar altında kişinin normal mikrobiyal florası infeksiyon yapma yeteneği kazanmaktadır¹.

Tablo 1 *Escherichia coli* infeksiyonlarının epidemiyolojisi¹

Hastalık/bakteriyel faktörler
Sepsis, idrar yolları infeksiyonları, neonatal menenjit, gastroenterit, hemolitik üremik sendrom
Toprak, su, sebzeler ve normal sindirim sistemi florasında bulunur
Çeşitli virülans faktörleri vardır
Bulaşma yolları
Duyarlı hastalarda endojen yayılma
Kontamine besin ve suların kullanılması
Nazokomial infeksiyon
Risk altındakiler
İdrar yolları infeksiyonu gelişme riski olan bireyler (toplumda veya hastanede)
İntestinal perforasyonlular
Nazokomial infeksiyon riski yüksek olan hastanede yatan hastalar
Kötü hijyen standartları olan ülkelere giden turistler
Coğrafik dağılımı/mevsim
Dünyada yaygın görülür, gelişmekte olan ülkelerde daha sık rastlanır
EPEC ve ETEC diyareleri yaz aylarında sık görülür
Kontrol metodları
In vitro aktivite gösteren antibiyotiklerle tedavi
Nazokomial infeksiyonların uygun hastane kontrolü
Hijyen standartlarının düzeltilmesi

E.coli ilk kez 1920'lerde infantil diyarelerde izole edilmiş, son on yılda turist diyarelerinin en sık

bakteriyel etkeni olduğu tespit edilmiştir. *E.coli* tarafından meydana gelen gastroenteritlerde, farklı mekanizmalar ile etki gösteren en az beş bakteri tipi tespit edilir. Bunlar; enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enteroinvazif *E.coli* (EIEC), enteropatojenik *E.coli* (EPEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC) ve enteroagregatif *E.coli* (EAggEC)'dir. ETEC, turist diyarelerine; EPEC, özellikle gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı diyarelerine; EIEC, Shigella dizanterisine benzer diyarelere; EHEC, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendroma; EAggEC, gelişmekte olan ülkelerde akut ve persistan diyarelere ve turist diyarelerine neden olmaktadır. ETEC ve EPEC non-inflamatuvar diyarelere neden olurken EIEC, EHEC ve EAggEC inflamatuvar diyarelere neden olmaktadır². Bu patojenler plazmitle kodlanan virülans faktörlerine sahiptirler, toksin salgırlarlar, intestinal mukoza ile spesifik olarak etkileşirler ve genellikle erişkin ve çocuklarda diyarelere neden olurlar (Tablo 1). Çocukluk çağı diyareleri; %59.1 oranında bakteriyel, %26.5 viral ve %2.3 parazitik etkenlerle meydana gelir³. Beş yaşın altında, 215'i diyareli 315 çocukta; ETEC, EPEC, EAggEC, EHEC ve EIEC tipleri araştırılmış, diyareli grupta, sırasıyla %14.4, %10.7, %9.3, %5.1 ve %0 oranları saptanırken kontrol grubunda %6, %5, %4, %3 ve %0 oranları saptanmıştır³.

E.coli, taşıdığı virülans genleri nedeniyle patojen özellik kazanan mikroorganizmaların mükemmel bir örneğidir. Bir mikroorganizmayı patojen yapan onun türü veya cinsi değil virülans genleridir. *E.coli* türlerinin, farklı virülans genleri taşıyan bir çok tipi bulunur. Bu nedenle, farklı *E.coli* türleri farklı hastalıklara neden olmaktadır. Diyareye, üriner sistem infeksiyonlarına veya menenjite neden olan *E.coli* türleri genellikle birbirinden farklıdır. Fakat, bir çok *E.coli* türlerinde virülans genleri bulunmaz. Bu avirulan türler nonpatojendir.

Sınıflandırma : serotip ve virotiplere ayırma

Birçok *E.coli* türlerinin patojen olmaması ve farklı türlerin farklı tipte hastalıklara neden olması nedeniyle, belirli bir salgından sorumlu olan türler gruplandırılmış yada farklı türler içinde sınıflandırılmıştır. Moleküler biyolojideki ilerlemelerden ve farklı türlerin hastalıklara neden olmasını açıklayan virülans faktörlerinin tanımlanmasından önce bilim adamları bakterileri tanımlamak için bakteri yüzey antijenlerini incelemeye başlamışlardır. Bunun sonucu, bakterilerin oldukça değişken bakteriyel yüzey

Özerol ve ark.

Escherichia coli diyarelerinin patogenezindeki son gelişmeler

yapıları esas alınarak serolojik sınıflandırma şemaları geliştirilmiştir. Serolojik tiplere günümüzde halen yaygın olarak kullanılmakta ve özellikle intestinal hastalık epidemilerinin seyrinin izlenmesini sağlamaktadır. Son yıllarda sınıflandırma şemaları virülans faktörlerine göre yapılmaktadır. Virülans faktörlerine göre mikroorganizmaların sınıflandırılmasına virotipleme adı verilmektedir. Bu şekilde türleri tiplere girişimleri, *E.coli* türlerinin virülans faktörleri hakkında açığa çıkarılan bilgilerin yeni kullanım alanlarına dair ümitler vermekte ve serotiplemeye göre hastalık oluşumu ile daha doğrudan alakalı görünmektedir. Fakat pratik olarak türlerin tanımlanması amacı ile serotiplemeye gelecekte de yaygın olarak devam edilecektir.

Serolojik sınıflama sisteminin temelini iki *E.coli* yüzey komponenti oluşturur: O (Almanca 'Ohne hauch', hareketsiz) ve H (Almanca Hauch, hareketli) antijenleri. O antijenleri, hücre duvarında lokalize olan ısıya dayanıklı, lipopolisakkarit yapısında somatik antijenlerdir. H antijenleri ise, ısıya dayanıksız protein yapısında ve flagellada lokalize antijenlerdir. O antijenleri, bir türün serogrubunu ve H antijenleri serotipini belirtir. Örneğin, O111:H4 ve O111:H12 antijenlerine sahip iki tür aynı anti-O fakat farklı anti-H antikorları ile reaksiyon verir. Bu nedenle aynı serogruba ve farklı serotip içinde sınıflandırılmaktadır. Bu şekilde en az 169 serogrup (O antijeni) ve 55 serotip (H antijeni) belirlenmiştir¹. Bir bakterinin serogrubu onun virülans olup olmadığını gösterir. Örneğin, Kalıcı kolon mikroflorasında bulunan bakterilerde O86 antijeni sık bulunur. Bunlar nadiren hastalıklara neden olurlar. Buna karşılık, kalıcı mikroflorada serogrup O55 nadiren bulunmakta ve genellikle hastalıklara yol açmaktadır. Kapsüllü bakterilerde bulunan ve ısıya nispeten dayanıksız olan K (kapsüller) antijenleri de sınıflandırmada kullanılmaktadır. *E.coli* izolatlarında, en az 100 K antijeni bulunur ve bunların da A, B ve L olmak üzere 3 tipi vardır. Kapsüllü bakteriler, infantlarda sistemik hastalıklara neden olurlar. Ayrıca, K antijeni O aglutinasyonunu inhibe edebilir¹.

E.coli izolatlarının serolojik sınıflandırılması, epidemiyolojik amaçlar için yararlıdır. Bazı O serogrupları farklı enteropatik *E.coli* ile ilgili olmasına rağmen serotipleme yeterince spesifik veya sensitif değildir ve diyagnostik amaçla kullanılamaz. Spesifik tanı pahalı, zaman alıcı ve bakterinin patogenetik özelliklerinin, patogenetik gen(ler)inin veya gen ürünlerinin gösterilmesine bağlıdır. Günümüzde, bu testlerin rutin diyagnostik amaçlarla kullanılması tavsiye edilmez fakat akut ve kronik

diyare etiolojisinin izlenmesinde çok yararlı olmaktadır.

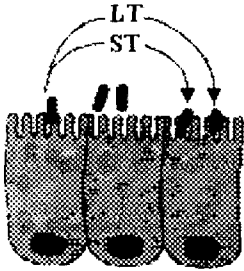
Virotipleme

Önem sırasına göre, virotipleme sisteminin temelini oluşturan özellikleri, bakterilerin konak hücrelerini istila etme şekli, istilanın konak hücrelerindeki etkileri, toksin üretimi ve invazivlik şeklinde sıralayabiliriz. Virülans faktörlerine dayanan sınıflandırma şemaları, kavramsal olarak *E.coli* türlerini gruplandırmada yararlı olmasına rağmen bazen hatalı sonuçlar alınabilir. Bazı *E.coli* türleri birden fazla sınıfın özelliklerine sahiptir. Ayrıca, bu sınıflandırma şeması bakteriyel adherans ve toksin üretimi hakkında elde edilen yetersiz bilgilere dayanmaktadır. Bu nedenle daha fazla bilgi elde edilebilmesi için sonuçların yorumlanması gerekir. Ancak bakteri türleri arasında kesin ayırım yapabilmeye nedeniyle sık kullanılmaktadır. Günümüzde, en sık izole edilen *E.coli* türlerinin beş virotipten ibaret olduğu tespit edilmiştir: enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enteroagregatif *E.coli* (EAggEC), enteropatogenik *E.coli* (EPEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC) ve enteroinvaziv *E.coli* (EIEC). Farklı virotiplerin en belirgin özellikleri aşağıda anlatılmış, Tablo II'de özetlenmiş ve Şekil 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7'de şematik olarak gösterilmiştir.

ENTEROTOKSİJENİK *E.COLI* (ETEC) :

ETEC türleri, *V.cholerae*'ya benzer şekilde ince bağırsak mukozasına yapışır ve mukozada yayılmadan, mukozalar üzerine etkili toksinler üreterek gastroenterite neden olurlar. ETEC türleri, plazmit üzerinde kodlu iki enterotoksin üretmekte ve bunlardan kolera toksini şeklinde etki gösterenine ısıya labil toksin (LT) ve diyare yaparına ısıya stabil toksin (ST) adı verilmektedir⁶. ETEC türlerinde bulunan spesifik adheziv pililer mikroorganizmaya virülans kazandırır. Bu pililer; domuz yavrularında K88, sığırlarda K99 ve insanlarda kolonizasyon faktörü I ve II (CFA/I ve II) antijeni yapısındadır^{1,6,7}. ETEC diyareleri, bir çok yönden koleraya benzer. Koleradaki gibi, burada da bakterilerin yapıştığı konak hücrelerinde belirgin histolojik bulgulara rastlanmaz ve inflamasyon azdır (Şekil 1). Diyare, koleradakin benzer şekilde kusma ve ateş ile birlikte ancak koleraya göre daha hafiftir. Özellikle infantlarda ve küçük çocuklarda koleradaki gibi fatal olabilir. Gelişmekte olan bir çok ülkede, bu popülasyonda ETEC diyareleri major bir ölüm nedenidir. Gelişmiş ülkelerde ise, ETEC

diyarelerine nadiren rastlanır^{1,8}. Amerikalı çocuklar arasında ETEC'e bağlı sporadik diyare vakalarına rastlanmaktadır. ETEC türleri erişkinlerde de diyarelere neden olur. ETEC türlerinin endemik veya epidemik olduğu ülkelerdeki erişkinlerde kısmi bir bağışıklık vardır. ETEC türleri bulunmayan ülkelere bu ülkelere seyahat için gelen turistler duyarlıdır. Bu nedenle, ETEC diyarelerinin erişkinlerde görülen şekli, **turist diyaresi** olarak adlandırılır². Farklı O serogrupları ve H serotiplerinin bir çoğu ETEC türü olarak kabul edilir.



Şekil 1. ETEC virüsitiplerinin özellikleri⁵. LT : *E.coli* ısıya-labil (choleralike) toksin , ST : *E.coli* ısıya-stabil toksin

ETEC türlerinin virülans faktörleri

ETEC adhezini : ETEC türleri birkaç pili oluşturur. Bunlardan ikisi daha önemlidir: **tip I pilileri** ve **kolonizasyon faktörü antijenleri (CFA) I ve II**⁶. Kolonizasyon faktörü antijenlerine koli yüzey antijenleri (CS) adı da verilmektedir. CFA, ETEC türlerinin ince bağırsakta kolonize olmasını sağlayan en önemli adhezindir. Tip I pililer daha evvel keşfedilmiş ve CFA'lara göre daha fazla incelenmiştir. Buna rağmen, tip I pililerin patojenik *E.coli* türlerinin gastrointestinal traktusa kolonize olmasına nasıl yardım ettiği halen anlaşılmamıştır. Çünkü, yalnız virülen *E.coli* türleri değil aynı zamanda avirülen türler de tip I pili taşımaktadır. Ayrıca, tip I pili yapamayan mutantlar da hastalıklara neden olmaktadır. Son çalışmalarda, tip I pililerin fonksiyonuna dair yeni bilgiler elde edilmiştir. Bu çalışmalara göre tip I pililerin kolonizasyon ve adheransı artırmadığı ve insan hastalıklarında virülans faktörü olarak da herhangi bir rolü olmadığı anlaşılmıştır. Gerçekten, tip I pililer, konak hücrelerinde olduğu gibi mukusta da bulunan mannosyl kalıntılara bağlanır ve bu nedenle tip I pililerin bakteriler için zararlı olduğu iddia edilebilir. Çünkü bakterileri musin tabakası içine hapsederek mukozaya ulaşmasını engeller.

CFA, sadece diyare etkeni *E.coli* türlerinde bulunur. Daha ince ve bazılarının daha uzun olması ile tip I pililerinden ayırt edilir. Bir çok ETEC türü hem CFA/I hem de CFA/II üretir. Ancak bazı ETEC türlerinin ne CFA/I ne de CFA/II üretmediği tespit edilmiştir⁶. Bu nedenle henüz keşfedilmemiş başka adhezini de olmalıdır. Son zamanlarda üçüncü ve dördüncü CFA tipleri de (CFA/III ve IV)^{9,10} bulunmuş ve CFA/III'e E8875 adhezini grubu adı verilmiştir. CFA/III'ün yapısı heterojendir ve ETEC diyarelerinin patojenezindeki rolü bilinmemektedir. En son bulunan ETEC adhezini ise paket oluşturan tipte bir pilustur (**bundle-forming pilus**)¹¹. Bu piluslar bakteri hücrelerinin sadece bir ucunda bulunur. Bu yapısı ile *V.cholerae*'nin Tcp pililerine benzerlik gösterir. Bu yeni adhezini, çok uzun olmaları nedeniyle **longus** ismi verilir¹¹. Hücre yüzeyinden dışa doğru yaklaşık 40 µm uzanır. Bu uzunluk *E.coli* bakteri hücresinden daha uzundur. Longus strüktürel genleri (LngA) büyük bir plazmidde kodludur. Tip IV piluslarındandır ve immünojenik özellikleri vardır¹¹.

CFA/I pilileri major pilin subünitlerinden oluşur ve uç kısmında özel adhezini proteinleri vardır. CFA/I pilileri, yeni tanımlanan longus pilisi hariç bir çok piliden daha uzundur. CFA/II ise, bir tek pilustan değil, yapıları ve reseptörleri farklı bir grup adhezini denir. CFA/II adhezini denir en az iki pili tespit edilmiştir. Bunlardan birincisi CFA/I ile aynı uzunlukta diğeri ise daha kısadır. Kısa olanına CS3 denir. CS3, atakmada rol oynar ve bu nedenle sadece CS3 pozitif türler patojendir. ETEC türlerinin virülansını tespit edebileceğimiz küçük hayvan modellerinin veya adheransını inceleyebileceğimiz bir hücre kültürü modelinin olmaması ETEC adhezini denir sınırlandırılmasını engellemektedir. Son zamanlarda, ETEC türlerinin Caco-2 (insan kolon karsinomu hücrelerinden elde edilir) ve HT-29 (insan meme karsinomu hücrelerinden elde edilir) hücrelerine adhere olduğu bildirilmiştir^{12,13}. ETEC türlerinin bu hücrelere bağlanması hususunda ilginç olan nokta; *Listeria* türlerinden ve diğeri bazı bakteriyel patojenler sadece undiferansiye hücrelere bağlanır iken ETEC türleri hücre yüzeyinde mikrovillus bulunan diferansiye hücrelere bağlanma meyli göstermektedir. Bu nedenle, CFA'lar ve bunların reseptörlerini tanımlamanın önemli olup olmadığı halen araştırılmaktadır.

CFA genleri genellikle plazmid üzerinde lokalizedir. CFA genlerinin regülasyonu hakkında bilinenler oldukça azdır. Demir, CFA üretimini

artırır. Ancak demirsiz besiyerlerinde de çok düşük seviyelerde üretilmeye devam eder. Besiyerine karbon kaynağı olarak asetat katılınca CFA üretiminin devam ettiği gösterilmiştir. Bu etkinin asetat'a mı yoksa üreme hızının azalmasına mı bağlı olduğu bilinmemektedir. Yine ilginç olarak, CFA üretimi tip I pili üretimiyle zıt ilişkilidir. CFA üretilirken tip I pili üretilmez yada tersi olur.

ETEC türlerinde putativ kolonizasyon faktörleri (PCFs)'nin de bulunabileceğini bildiren araştırmacılar vardır^{9,12,14}.

ETEC türleri tarafından üretilen toksinler : Adheran ETEC türleri, ısıya labil (LT) ve stabil (ST) adında iki toksin üreterek diyareye neden olurlar⁶. 100°C'de 30 dakika inkübe edilince, ST'in toksin aktivitesi devam ederken LT etkisiz hale gelir. ST'in ısıya dayanıklı olması, bu toksinin sıradan bir protein olmadığını gösterir. LT'in iki tipi vardır; LT-I ve LT-II. LT-I, kolera toksini ile amino asit sırası yönünden %75'in üzerinde benzerlik gösterir. Bu sonuç sürpriz değildir, çünkü kolera toksini ile aynı yapıya (5 B subüniti ve bir A subüniti vardır) ve aynı etki mekanizmasına (konak hücrelerinde cAMP seviyesini artıran stimülatör guanin 'G_s'in B subünitini katalizleyerek izotonik intestinal sekresyona neden olurlar) sahiptir. LT-I'in B subüniti, kolera toksini ile aynı reseptöre bağlanır (G_{M1}). LT-I, kolera toksininden farklı olarak bakteri tarafından besiyerine salınmaz. Periplazmada lokalizedir. Bu nedenle bakteri dışına nasıl çıktığı ve konak hücre reseptörleri ile nasıl temasa geldiği araştırılmıştır. Besiyerine, ince bağırsaktaki konsantrasyonlarda, safra tuzları eklenince ekstrasellüler ortama LT-I'in çıktığı gösterilmiştir. İnce bağırsaktaki gibi, besiyerinde demir konsantrasyonu düşük tutulur ve tripsin eklenirse bakteri parçalanması artar. LT-II, LT-I ile aynı temel yapı ve etki mekanizmasına sahiptir. Şimdiye kadar LT-II'nin primer olarak hayvanlarda bulunduğu ancak insan veya hayvanlarda hastalıklarla ilgisi olmadığı anlaşılmıştır.

LT-I'in gen organizasyonu, kolera toksini ile aynıdır. Her ikisinin de A ve B subünitini kodlayan genler bir operonda organize edilmiştir. LT-I ve kolera toksininin DNA ve amino asit sırası benzer olmasına rağmen promotör bölgeler tamamen farklıdır. Bu nedenle, LT-I sentezinin regülasyonu kolera toksininin regülasyonundan farklı olması beklenir. LTA ve LTB'yi kodlayan genlerin transkripsiyonu regüle edilmelidir. Çünkü besiyeri kompozisyonu toksin üretimi miktarını etkilemektedir. Örneğin,

bazı amino asit karışımları LT-I sentezini 2-3 katına artırır. Karbonhidrat ve çinko bulunması da LT-I üretimini etkiler. Subletal konsantrasyonlarda linkomisin ve tetrasiklin, diğer protein sentezini inhibe eden antimikrobiklerden farklı olarak LT-I üretimini stimüle eder. LT-I üretiminin regülasyonu oldukça kompleksdir ve şimdiye kadar araştırmacıların açıklayamadığı çeşitli faktörler etkilidir.

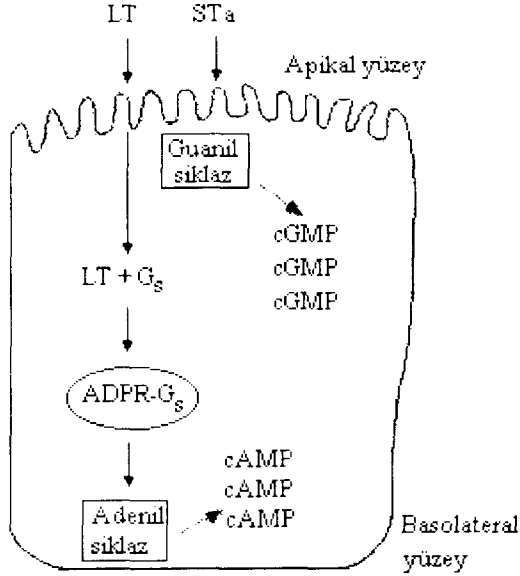
ST, bir tek toksinden ibaret değildir. İki subgruptan oluşan, küçük (2 kDa) moleküler ağırlıkta toksinlerden oluşur. Metanolde çözünene STa ve metanolde çözünmeyene STb adı verilir. ST'in küçük çaplı olması, yüksek ısıda inaktive olmamasını sağlar. Büyük proteinler yüksek ısıda daha fazla inaktive olur. ST'ler, peptid uzunluğunu değiştiren bir kaç etap sonunda besiyerine salınır. STa, periplazmaya ilk önce 72 amino asit uzunluğunda salınır (prekürsör toksin). Sekresyon sırasında 18 amino asit ayrılır, 54 amino asit kalır. Bu peptid ekstrasellüler sıvıya salınır. Burada, tamamen anlaşılmayan bir işlem sonunda 17-19 amino asitlik son formu oluşur. Benzer etaplara STb'de de rastlanır¹⁵. STa, konak hücrelerinin apikal membranında lokalize olan guanil siklaza bağlanır ve guanil siklazı aktive ederek konak hücre sitoplazmasında siklik GMP (cGMP) seviyesini artırır (Şekil 2). Siklik AMP (cAMP) seviyesini ise artırmaz. Ökaryot hücrelerde cAMP ve cGMP önemli sinyal iletilici moleküllerdir. cGMP artınca, hücrede iyon pompası aktivitesi dahil bir çok fonksiyonlar etkilenir. Bu nedenle, cGMP seviyesi artınca kontrolsüz cAMP artışında olduğu gibi aynı tipte sıvı kaybı meydana gelir (Şekil 2). Son bulgulara göre STa, guanil siklazı bir hormon gibi etki yaparak aktive etmektedir. Aktivasyon sırasında ATP gerekir. Ancak ATP'nin rolü belli değildir ve yardımcı faktörlerin de (örn. ATP'yi bağlayan proteinler) olaya katıldığı düşünülmektedir. STb, STa'ya göre farklı amino asit sırasına sahiptir ve bu nedenle farklı mekanizmalarla etki yapar. STa insan ETEC türlerinde, STb ise porcine ETEC türlerinde bulunur. STa, bir tek gen tarafından kodlanır ve ekspresyonu regüle edilir.

STa, LT-I ve CFA genleri aynı plazmitlerle taşınır¹⁶. Bu nedenle STa, LT-I ve CFA'lar birlikte üretilmektedir. STa, LT-I ve CFA genleri taşıyan plazmitlerde homolog bölgeler vardır. Bu homolog bölgeler transpozonlarla ilişkili IS (insertion sequence) elementlerinden oluşur. STa, ve LT-I genlerinin çeşitli farklı dizilimleri transpozonların etkisine bağlıdır¹⁷. Transpozonlar, replikondan

Özerol ve ark.

Escherichia coli diyarelerinin patogenezindeki son gelişmeler

replikona hareket etmekte kalmaz aynı zamanda iki plazmidin füzyonuna ve genlerinin dizilmesine veya çoğalmalarına da aracılık eder.



Şekil 2. LT ve STa'nın hücredeki etki yerleri ve etki mekanizmalarının karşılaştırılması. LT, kolera toksini gibi, stimulatör guanin (G_s) proteini ile birlikte hücrenin basolateral yüzeyinde lokalize olan adenil siklaz enzimini aktive eder. STa, ise hücrenin apikal yüzünde lokalize olan guanil siklaza bağlanarak onu aktive etmektedir⁵.

Yaptığı hastalıklar

Konak vücuduna giren ETEC 1-2 günlük inkübasyon periyodundan sonra sekreteruar tipte diyareye neden olur ve bu diyare ortalama 3-4 gün devam eder. Semptomlar karakteristik olarak hafiftir; bulantı-kusma, abdominal kramplar ve sulu diyare görülür¹⁸.

Turist diyareleri : Gelişmiş ülkelerden, hijyen şartları yetersiz olan tropikal veya subtropikal ülkelere seyahat eden sağlıklı kimselerde görülür. Dünyada her yıl 300 milyon kişi uluslararası turistik gezilere katılmakta, 16 milyon kişi (8 milyonu Amerikadan) gelişmiş ülkelerden az gelişmiş ülkelere gitmektedir. Turist diyarelerinin birçoğunun başlangıcı, varıştan sonraki 5-15. günlerde başlar. Halsizlik, iştahsızlık, abdominal kramplar, bağırsak hareketlerinde artma ve gastrointestinal traktustan bol sıvı kaybı ile karakterizedir. Diyare noninflamatuvardır, kan veya cerahat bulunmaz.

Epidemiyolojik çalışmalarda, A.B.D.'den Meksikaya giden erişkinlerde yapılan incelemelerde diyareli grubun %72'sinde ve diyaresiz grubun %15'inde LT üreten ETEC türleri izole edilmiştir¹⁹. Yapılan çalışmalarda inkübasyon periyodu 1-2 gün, ortalama diyare süresi 3-4 gün ve hastalık semptomlarının hafif olduğu tespit edilmiştir. Bazen ateş, titreme ve kusma ile giden daha ağır hastalık tabloları görülebilir. ST üreten ETEC türleri LT üretenlerle aynı tipte hastalığa neden olur. Organizma, fekal kapsamla kontamine su ve salataların yenmesi ile fekal-oral yoldan bulaşır. Organizma mide asit pH'sına dirençlidir. Bakteriler ince bağırsağa gelince plazmidle kodlanan fimbriaları ile intestinal mukozaya yüzeyine adhere olur. Aynı plazmit enterotoksini de kodlar. Bu toksin intrasellüler siklik nükleotidleri artırarak mukozaya hücrelerinden sıvı salgılanmasına sebep olur. Gastrointestinal lümeneye sekrete edilen antiadheziv antikorların, bakteri kolonizasyonunu ve adheransını bloke ettiği ve ETEC gastroenteritine karşı immünite sağladığı sanılmaktadır. ETEC türlerinde antijenik olarak farklı birçok fimbria bulunması nedeniyle immünite tipe spesifiktir. Bu nedenle bölge halkının daha önceden kolonizasyon antijenleri ile karşılaştığı, uygun humoral immünite geliştiği ve ETEC diyarelerinin görülmediği ileri sürülmektedir¹⁹.

Teşhis metotları

Hastalığın toksine bağlı olup olmadığını, hastalardan elde edilen izolatların toksijenik olup olmadığını anlamak ve toksin üreten spesifik serotipleri tespit etmek amacıyla doku kültürü veya hayvan modelleri kullanılmaktadır. Farklı *E.coli* virotipleri tarafından üretilen diyareik toksinleri tespit etmek için ligate tavşan ileal loop testi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modelde, anestezi edilen bir tavşanın ince barsağında ayrı kompartmanlar oluşturacak şekilde kravat bağlar yapılır. Ligat edilen segmentlerin her birine incelenecek madde inoküle edilir. Bir kaç saat sonra tavşan öldürülür ve her segmentteki sıvı birikimi ölçülür. Diyare nedeni toksinler segmentlerde gözle görülür bir tarzda şişmeye neden olur. Bazı toksinlerin konağa spesifik olduğu hatırlanmalıdır. Bu nedenle, tavşan testinde enterotoksijenik etkilerin gösterilememesi toksin üretilmediğini göstermez.

ETEC diyareleri için deney hayvanı modeli yoktur. Bu türler, insan ince bağırsağında hastalıklara neden olur yani insan için spesifiktir. Bununla birlikte, ETEC türlerine benzeyen *E.coli*

türleri kedi ve köpeklerdeki diyarelerin sık bir nedenidir. Ayrıca, sığır ve domuzlarda ETEC diyarelerine bağlı ölümler sık görülmektedir. ETEC virülans mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz sığır ve domuzlarda yapılan çalışmalara dayanmaktadır. EPEC türleri gnotobiotik domuz yavrularının intestinal hücrelerine yapışır ve onları yok eder. Ancak bu model virülans çalışmaları için kullanılamaz çünkü teknik olarak zordur.

ETEC türleri, HEp-2 hücrelerine veya diğer sık kullanılan hücre kültürlerine bağlanamaz. Son yıllarda bazı araştırmacılar, ETEC türlerinin Caco-2 (insan kolon karsinomu hücrelerinden elde edilir) ve HT-29 hücrelerine (insan meme karsinomu hücrelerinden elde edilir) attake olduğunu göstermişlerdir. Bu hücre kültürlerinde, hücreler ve apikal yüzlerindeki mikrovilluslar arasında birleşme zayıftır ve hücreler, polarize tek tabaka oluştururlar. Bu nedenle intestinal doku için HeLa ve HEp-2 hücre kültürlerine göre daha iyi birer modeldir. HT-29 hücre kültürleri intestinal dokudan ziyade meme dokusundan elde edilmesine rağmen, bunların bazı özellikleri intestinal mukoza hücreleri ile aynı özelliklere sahiptir.

CFA'lar lateks aglütinasyon, stafilokok koaglütinasyon ve agar gel immündefüzyon metodları ile tespit edilebilmektedir^{10,20}.

STa'yı kodlayan genin ekspresyonu cAMP tarafından kontrol edilir. LT ve ST'i kodlayan genler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilmiştir²¹.

STb üretimi domuz intestinal loop testi (PIL), DNA hibridizasyonu ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ile tespit edilebilmektedir²². STa ve STb genleri gen prob tekniği ile tespit edilebilmektedir^{11,23}. Piyasada, ETEC türlerinin ürettiği LT ve ST'i tespit edebilen kitler vardır. LT için, VET-RPLA (oxid, cat. no. TD 920) ve ST için, STEIA (oxid, cat. no. TD 700) kiti kullanılır²⁴.

ETEC, toksin genlerinin gen probu ile belirlenmesi²⁵ veya toksinlerinin tespit edilmesiyle idantifiye edilir. LT, doku kültürü testleri ve ELISA ile ST ise süt faresi deneyi ile (hastalarda pozitif, kontrollerde negatif olmasıyla) tanınmaktadır²⁶.

Tedavi

Turist diyarelerinin önlenmesinde bizmut subsalisilat kullanılır. Bismut subsalisilat, bağırsaktaki enterotoksin aktivitesini bloke edebilir¹. Hastalık meydana gelince antimikrobikler hastalığın

süresini kısaltır fakat sıvı ve elektrolit replasmanı daha önemlidir²⁷. Antimotilite droglar semptomları düzeltir fakat patojenik bakterilerin gastrointestinal traktusta kalma süresini uzatır. Profilaktik amaçla antimikrobiklerin kullanılması düşünülebilir. Bu amaçla kullanılan doksisislin, trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-STX) ve kinolonlar dışındaki patojen bakterilerin sayısını azaltır. Fakat superinfeksiyon, antibiyotik rezistansı ve enterotoksijenitenin türler arasında transfer edilmesine sebep olur. Bu nedenle hastalıktan korunmak için antibiyotik tedavisi yerine turistlerin risk altındaki ülkelerde salata ve çiğ sebzeleri yememesi, şişe suyu ve karbonatsız su kullanmaması önerilmektedir²⁷. Suyu 50-55°C'ye ısıtıp 10-15 dak bu ısıda tutarak enterik bakteriyel ve parazitik etkenler öldürülebilir. Antibiyotiklerle loperamidin birlikte kullanılması ile turist diyareleri 10 saatten az bir sürede kontrol altına alınabilir. TMP-STX veya ciprofloxacın 3-4 günlük hastalık süresini 1-1.5 güne indirebilir. TMP-STX'e 1993'ten itibaren direnç bildirilmiştir, ciprofloxacın ve norfloxacın gibi flourokinolonlar kullanılmalıdır. Kinolonlar, hamilelikte (attapulgit gibi nonabsorbabl ajanlar kullanılabilir.) ve 16 yaşından küçüklerde (TMP-STX + eritromisin kullanılmalıdır) kontrendikedir¹.

Korunma

ETEC türlerine karşı ölü bakteriyel aşı geliştirilmiş ve intradermal verilince antikor cevabının oluştuğu bildirilmiştir²⁸. CFA/I'de aşılarda immünojen olarak denenmiştir²⁹. CFA/I ve CFA/II antijenleri taşıyan bakterilerin formalinle inaktive edilerek hazırlanan aşı İsveçli gönüllülere oral yoldan verilmiş ve periferik kanda spesifik mukozal immünoisitler tespit edilmiştir³⁰. Kolera toksoidi B subüniti ile birlikte formalinle öldürülmüş ETEC aşısının oral yoldan iki doz verilmesinden sonra güçlü mukozal immün cevap oluştuğu ve periferik kanda antikor sekrete eden hücrelerin (spesifik mukozal B immünoblastlar) ortaya çıktığı bildirilmiştir^{31,32}.

STa, yalnız başına zayıf immünojendir. Ancak LT-II B subünitine kovalan olarak bağlanınca antitoksin antikorlar oluşturabilmektedir³³.

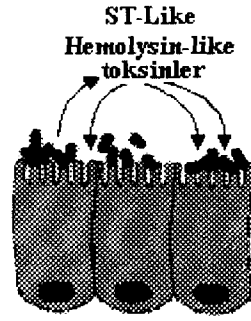
ENTEROAGREGATİF E. COLI (EAggEC) : EAggEC türleri, yeni bir virotipdir. Gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda persistan diyarelere neden olurlar^{2,34}. İnce bağırsak mukoza hücrelerine bağlanma şekilleri ETEC türleri gibidir. İnvazyon ve

yapıştıkları ince bağırsak hücrelerinde aşık histolojik belirtiler yapmazlar (Şekil 3). ETEC türlerinden, primer olarak ince bağırsak mukozası yüzeyine uniform olarak adhere olmaları ve mukoza yüzeyinde küçük agregatlar yapmaya meyilli olmaları ile ayrılırlar. HEp-2 hücre kültürüne (insan larinks karsinomu hücrelerinden elde edilir) agregatif yapıda adhere olurlar ve bu nedenle bu virotiplere enteroagregatif adı verilmektedir³¹. EAggEC türleri, biri ST'e (SLT) ve diğeri hemolizin toksine benzeyen iki toksin üretir. EAggEC grubunda bulunan serogrupların sayısı ve insan hastalıklarının sebebi olarak önemi halen kesin olarak belirlenmemiştir. Agregatif özellik, 60 mDa'lık bir plazmitle sağlanır¹.

EAggEC türlerinin virülans faktörleri

EAggEC adhesinleri : EAggEC türleri, ince (4-7 nm kalınlıkta) fibriler yapılarla çevrilidir. Bu yapıların türe adhezyon özelliği kazandırdığı kabul edilir. Bu pililer saflaştırılmış ve 18 kDa subünitlerden oluştuğu tespit edilmiştir. Bu subünit proteinin amino terminal ucundaki amino asit sırası GVPQ şeklindedir. Bu nedenle **GVPQ adhesini** adını alırlar. Bazı *Salmonella* türlerinde bulunan ince filamentöz adhezinlere ve diğerk bakteriyel pililere benzerlik gösterir. EAggEC, in vitro ve in vivo agregat yapmaya meyillidir. Bu nedenle, GVPQ fimbrialarının bakterilerin birbirine yapışmasından ziyade konak hücrelerine yapışmada rol aldığı kabul edilmektedir. EAggEC türlerinin GVPQ fimbriaları, hayvanları infekte eden *E. coli* türlerinde bulunan ilginç bir pilusa benzerlik gösterir. Bu piluslar incedir ve bakteri yüzeyinden dışa doğru uzanan kıvrıkcık saç görünümündedir. Bu nedenle **curli** pilusları olarak adlandırılır. Curli pilusları bir virülans faktörüdür. Ancak, bu tür adhesinlerin insan hastalıklarında rol alıp almadığı, alıyorsa nasıl etki yaptığı bilinmemektedir.

EAggEC türlerinin toksinleri : EAggEC türleri intestinal mukozaya yapışır ve invaze olmadan veya inflamasyon oluşturmadan diyarelere neden olurlar. Bu nedenle bazı ETEC türlerinde olduğu gibi bazı diyareik toksinler oluşturduğu düşünülmüştür. Daha önceki çalışmalarda bu türlerin LT veya ST ürettiğine dair bir bulgu elde edilememiştir. Bununla birlikte, şimdi EAggEC türlerinin ST gibi bir toksin ürettiği gösterilmiş ve buna **enteroagregatif ST**'i göstermek üzere **EAST** adı verilmiştir³⁵. EAST'ın virülans faktörü olup olmadığı halen tespit edilmeye çalışılmaktadır.

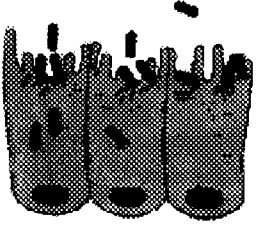


Şekil 3. EAggEC virotiplerinin özellikleri⁵. SLT : Shiga-like toksin.

EAggEC türlerince üretilen ikinci bir toksin daha bulunmuştur. Bu toksin 120 kDa'lık bir ekzotoksindir. Üriner sistemde infeksiyonlara neden olan *E.coli* türlerince üretilen bir **hemolizine** çok benzer. Bu toksin, hemolizin olarak bildirilmesine rağmen eritrositleri lize etmez fakat hemolizinlerle aynı etki mekanizması ile konak hücresi membranında porlar oluşturur. Bu toksinin HEp-2 hücrelerine bağlanarak intrasellüler kalsiyum seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu artışın nedeni, toksin etkisiyle açılan porlardan besiyerindeki Ca^{+2} un hücre içine girmesidir (intrasellüler Ca^{+2} depolarından Ca^{+2} un serbestleşmesine bağlı değildir). Ökaryot hücrelerde Ca^{+2} önemli bir sinyal iletilici elementtir. Ca^{+2} seviyesindeki değişimler, bir çok hücre fonksiyonlarını etkiler. HEp-2 hücrelerinde, Ca^{+2} aracılığıyla hücre proteinlerinin fosforillendiği ve EAggEC türlerinin adherans özelliği kazandığı gösterilmiş, ancak bu fosforilasyonun anlamı anlaşılammış ve hedef proteinleri tanımlanamamıştır.

ENTEROPATOJENİK E.COLI (EPEC) : EPEC türleri (EAggEC türleri gibi), hücrelere yapışma bakımından genellikle yamalı bir yapı gösterirler. Ancak EAggEC türlerindeki gibi agregatlar yapmazlar. ETEC ve EAggEC türlerinden farklı olarak, EPEC türlerinin konak mukoza hücrelerine bağlanmaları ile ultrastrüktürel bakımdan büyük değişiklikler meydana gelir (Şekil 4). Bu bakteriler, hücre yüzeyini örten mukus tabakasını yok edebilmektedir. Normal mukozaların apikal yüzeylerinde absorpsiyon yapabilen sayısız parmak şeklinde kısa uzantılar vardır (mikrovilli). EPEC türlerinin yapıştığı hücrelerde mikrovilluslarda uzama meydana gelir. Hastalık organizmaların enterosit plazma membranına adhere

olabilme yeteneğine ve bitişik mikrovillusların tahrip edilmesine bağlıdır. Buraya bakteriler bağlanamaz. Buna **saldırma ve yoketme fenomeni** adı verilir^{2,36}. Adheran bakterilerin çevresindeki konak hücresi aktinlerinin yoğun bir şekilde yeniden dizilmeleri sonucu bakterilerin altında, kep şeklinde temeli olan yapılar oluşur. EPEC türleri, ETEC veya EAggEC türlerinden daha invazivdir ve daha fazla inflamatuvar reaksiyona neden olurlar. EPEC infeksiyonlarında diyare ve diğer semptomlar, primer olarak, ne konak hücrelerinin bakteriler tarafından invazyona uğramasına ne de eksotoksinlerin üretilmesine değil sinyal transdüksiyon sistemlerinin bozulmasına bağlıdır.



Şekil 4. EPEC virotiplerinin özellikleri.

EPEC türlerinin virülans faktörleri

Konak hücreleri ile EPEC etkileşim devreleri : EPEC diyareleri, ETEC diyarelerine göre daha kompleks bir hastalıktır. Hastalık üç devrede meydana gelir. Son yıllarda EPEC türlerinin HEp-2 hücrelere yapıştığı görülmüştür ve HEp-2 hücrelerinde meydana gelen değişimlerin EPEC türleri ile infekte gnotobiotik domuz yavrularının ince bağırsak mukoza hücrelerinde görülen histolojik değişimlere benzerlik göstermesi sonucu EPEC türlerinin hücre yüzeyine bağlanmasından sonra konak hücrelerinde ortaya çıkan olayların incelenmesi çok kolaylaşmıştır. Bu nedenle, HEp-2 hücreleri, saldırma ve yoketme fenomeni için iyi bir modeldir. Bakteriler konak hücrelerini üç devrede etkilemektedir (Şekil 5); birinci devrede, bakteriler pilusları aracılığıyla uzaktan hücreye bağlanır. İkinci devrede, bakterilerin konak hücrelerine yapışması ile sinyal iletimi olayları tetiklenir. Konak hücrelerinde tirozin kinaz aktive olur³⁷. Hücre içinde Ca⁺² seviyesi artar^{37,38}. Üçüncü devrede, bakteri konak hücrelerine daha yakından bağlanır. Bakterinin bağlandığı hücrenin yüzeyindeki aktin yeniden düzenlenir olur³⁸. İkinci ve üçüncü devrelerde, histolojik olarak, bazı mikrovilluslarda deformasyon ve diğerlerinde destrüksiyon görülür. Bakterinin yapıştığı hücre

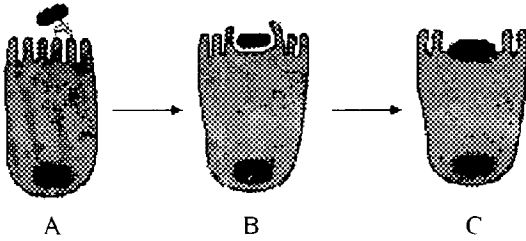
yüzeyinin altında sitoplazmada kep şeklinde bir oyuk oluşur³⁸. Bu yapı aktin liflerinin yoğun bir küme yapmasından oluşur. Bu olaya saldırma-yoketme fenomeni ve bu olayda yer alan genlere **eae** (*E.coli* attachment-effacement) genleri adı verilir³⁸. Klasik EPEC türleri HEp-2 hücrelerine genellikle fokal adherans göstermekte ve kreşlerdeki epidemilerde bu tipler izole edilmektedir. Bu nedenle, klasik EPEC türlerine **enteroadheran E.coli** (EAEC) adı da verilmektedir. İki adhezyon molekülü tespit edilmiştir; birincisi bakteri kromozomunda (eae) kodludur, bakterilerin hücre içine girmesini sağlar. Diğeri ise plazmitle taşınır.

EPEC türlerinin konak hücrelerini etkilemesinde rol alan ve hem strüktür hem de amino asit sırası bakımından *V.cholerae*'nin Tcp piluslarına benzeyen bir pilus tanımlanmış ve buna **bundle-forming pilus (Bfp)** adı verilmiştir^{36,39}. Bu pilus, 'longus' olarak adlandırılan ETEC bundle-forming piluslarına benzer fakat onunla identik değildir. EPEC türlerinin virülansında Bfp'lerin ne rol oynadığı henüz bilinmemektedir. Ancak HEp-2 hücrelerine adheransta rol oynadığı düşünülmektedir. Çoğalma sırasında EPEC türlerinin agregat oluşturmasının sebebi, bakteri ve konak hücreleri arasında adherans oluşmasından ziyade bakteri-bakteri etkileşimleridir¹⁰. EPEC türleri, adherans için gerekli olan bir plazmit taşır¹¹. Bu plazmidde **EAF** (EPEC adherence factor) adı verilir^{36,41}. Bu plazmid üzerinde Bfp'nin alt birimlerini (BfpA) kodlayan genler bulunur³². *Shigella* ve ETEC türlerindeki gibi EPEC'te başka virülans faktörleri de bulunur. Bfp'lerin sadece EPEC türlerinde görülen bir adhesin olmadığına dair indirekt deliller vardır. Birincisi, birçok EPEC türü HEp-2 hücrelerine lokal olarak adhere olmasına karşılık bazı türler diffüz olarak adhere olmaktadır. Buna göre bazı EPEC türlerinde Bfp tarafından tanınan reseptörlerden farklı reseptörleri tanıyan adhesinler de bulunmaktadır. İkincisi, Bfp genleri plazmidlerle kodlanır fakat kromozoma bir transpozon katılması ile HEp-2 hücrelerine bağlanması önlenir¹². Bu mutasyon, Bfp sekresyonu ve birikmesi için gerekli olan bazı genlerde de meydana gelmektedir.

EPEC türlerinin HEp-2 hücrelerine bağlanmasını sağlayan enteroadheran faktör (EAF)'ün bulunup bulunmamasına göre, EPEC türleri iki sınıfa ayrılmaktadır. Klas I EPEC türleri, EAF pozitifdir. Bu grupta şimdiye kadar tanımlanmış serotipler: O55:K59:H6/7, O111:K58:H5/12, O127:K63:H6, O119:K69, O125:K70:H21, O126:K71:H/H2, O128:K67, O142 ve O158'dir. Klas II EPEC türlerinde ise EAF negatifdir. Bu gruptaki bilinen

serotipler; O44:K74, O114 ve O86:K61'dir.

EPEC türlerinin konak hücrelerine sıkı sıkı bağlanmasını intimin denen 94 kDa'lık bir dış membran proteini sağlar³⁸. Intimin geni *eaeA* olarak gösterilir⁴³. Gönüllü insanlarda yapılan incelemelerde intimin gen ekspresyonu olmayan mutant bakterilerde virülansın azaldığı tespit edilmiştir. Bu olay intimin'in önemli bir virülans faktörü olduğunu düşündürmektedir. Intimin'in de aktinde yeni dizilimlere neden olduğu ve hücrekültürlerinde kep şeklinde yapılar oluşturduğu tespit edilmiştir³⁸, ancak bu olaya diğer proteinler de katılır.



Şekil 5. EPEC türlerinin konak hücrelerine bağlanma basamakları ve bağlanmanın konak hücresi fonksiyonları üzerine etkileri³. A. Bundle-forming pilusları ile konak hücrelerine tutunma. B. Bakterinin konak hücrelerine yapışması ile sinyal transdüksiyon olayları stimüle olur, konak hücrelerinde tirozin kinaz aktive olur, intrasellüler Ca^{+2} seviyesi artar. C. Bakterilerin konak hücrelerine sıkı sıkı yapışması ile bakterilerin atındaki konak hücreleri yüzeyinde (intimin), aktin liflerinin yapısı değişir ve hücre yüzeyi krater görünümü alır.

EPEC adhesinlerinin konak hücrelerine etkileri :

Günümüzde, EPEC türlerinin (LT, ST veya diğer bilinen bir) toksin ürettiği gösterilmemiştir. O halde bu tür mikroorganizmalar nasıl diyare oluşturmaktadır?. Diyare; ya EPEC'in standart testlerle tespit edemediğimiz bir toksini ile ya da mukoza hücrelerinin absorpsiyon kapasitesinin kaybolması ile meydana gelebilir. Mukoza hücreleri, suyu absorbe ederek vücuttan atılmasını engeller. Bu nedenle, ya (ETEC türlerindeki gibi) dokudan su kaybı olur ya da suyun absorbe edilmesi yetersizdir. EPEC türleri konak hücrelerine bağlanınca, kompleks presipitat etkileri sonucu, mukoza hücrelerinin absorpsiyon yapan apikal yüzeylerini tahrip eder ve absorpsiyon kabiliyetini azaltır. Bakterilerin HEp-2 hücrelerine bağlanması konak

hücre sitoplazmasında serbest Ca^{+2} konsantrasyonunu artırır. HEp-2 hücrelerine bağlanan EAggEC, ekstrasellüler Ca^{+2} un hücre içine girmesini artırarak intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunu yükseltirken, EPEC intrasellüler depolardan Ca^{+2} un salınması sonucu intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunu artırmaktadır. Hücre bütünlüğünün bozulması sonucu aktini depolimerize eden enzimlerin aktive olması da intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunu artırır. Ayrıca, EPEC konak hücrelerine bağlanınca proteinler fosforile olur. Ökaryotik proteinlerin fosforilasyon ve defosforilasyonu sinyal transdüksiyonuna katılır. EPEC türleri, sinyal transdüksiyonu rolü olan bir tirozin kinaz proteinini aktive eder. Artan Ca^{+2} konsantrasyonunu da konak hücre proteinlerinin fosforilasyonunu tetikler¹¹. HEp-2 hücrelerine adhere olan EPEC türlerinin hücredeki proteinleri fosforile ettiği gösterilmiştir. Bu olay, mikrovillus yapısında meydana gelen değişimleri ve adheran bakterinin altındaki aktinin anormal artışını açıklayabilir. Bakterilerin yakınındaki mikrovillusların deformasyonu sonucunda, bazı bakteriler fagositik veziküllerin içine alınır. EPEC türlerinin insanlarda hastalıklara sebep olurken mukozayı invaze edip etmediği bilinmemektedir. EPEC türlerinin *Shigella* türleri kadar invaziv olmadığı kesindir². Ferdi veya endemik hastalıklarda izole edilen *E.coli* serotiplendirilmesi epidemiyolojik amaçlar dışında ümit kırıncıdır.

Yaptığı hastalıklar

Uzun süredir, EPEC türlerinin insanlarda hastalıklara neden olup olmayacağı sorusu farklı şekilde cevaplandırılmaktaydı. Çünkü, ilk epidemiyolojik taramalarda, çocukluk çağı diyarelerinden ETEC türleri izole edilmekteydi. Günümüzde çocuk ve infantlarda EPEC türlerinin de ETEC türleri gibi ciddi, sıklıkla fatal diyarelere neden olduğu net bir şekilde gösterilmiş, özellikle gelişmekte olan ülkelerde pediatrik diyare ve ölüm vakalarının sebebi olabileceği bildirilmiştir. Spesifik O serotipleri, kreşlerde EPEC diyare epidemilerine neden olmaktadır. Bu hastalıklarda genellikle O608, O25, O26, O111, O119, O125-128, ve O142 serogrupları daha sık bulunur. Gelişmiş ülkelerde de EPEC diyarelerine rastlanmaktadır. Dört aydan küçük infantlarda nozokomiyal diyarelerin en sık nedenidir⁴. İngiltere ve Kanadada endemik çocukluk çağı diyarelerinin %6-18'i EPEC diyaresidir⁴. İlginç olarak, bir ülkede ETEC'e bağlı pediatrik diyareler

fazla ise EPEC diyareleri, EPEC diyareleri fazla ise ETEC diyareleri daha az görülmektedir. Bağışık olmayan erişkinlerde de EPEC diyareleri görülebilir ve bazen bu tip diyareler turist diyarelerinden önce başlayabilmektedir. EPEC virotiplerinin bir çok O serogrubu bulunur. Genellikle, EPEC ile ilişkili serogruplar EPEC virotiplerine, EPEC ile ilişkili olmayanlar diğer virotiplere bağımlıdır. Tek istisna serogrup O128'dir. Buna hem ETEC hem de EPEC türlerinde rastlanır. Ancak ETEC türlerinde, EPEC`tekilere göre daha sık rastlanmaktadır.

Teşhis metotları

Bakteriyel adheransın ölçülmesi amacıyla hücre kültürleri kullanılmaktadır. EPEC atakmanını araştırmada kullanılan en popüler hücre kültürleri HeLa (insan cervix karsinomu hücrelerinden elde edilir) ve HEp-2 hücre kültürleridir. Bu hücre kültürlerindeki hücreler undiferansiyedir ve üretildikleri normal şartlar altında polarize tek tabaka oluşturmazlar. Ancak, HEp-2 hücre kültürleri EPEC türleri ile in vivo infeksiyonlarda görülenle aynı tipte reaksiyon oluştururlar (saldırma-yoketme fenomeni). Bu nedenle saldırma-yoketme fenomeninin incelenmesi için mükemmel bir model oluşturur.

EPEC türlerinde bazen invazivlik tespit edilememektedir, bu nedenle EAF gen probu ile idantifiye edilmelidir¹⁵. Hasta ve kontrollerden elde edilen *E.coli* izolatlarının serotiplendirilmesi epidemik amaçlarla kullanılır. Hastalarda kontrollerdekinden farklı serotipler bulunursa önemlidir.

ENTEROHEMORAJİK E.COLI (EHEC) : EHEC türleri, inflamatuvar diyarelere neden olur. Son yıllarda, gelişmiş ülkelerde bu tipte birçok epidemik vakasına rastlanmıştır. Gelişmiş ülkelerdeki pediatrik diyareler genellikle fatal seyretmez iken EHEC türleri ile meydana gelen infeksiyonlar, akut böbrek yetmezliği (hemolitik - üremik sendrom [HUS]) komplikasyonuna sebep olarak ölüme yol açabilir^{2,8}. EHEC türleri, EPEC ve ETEC diyarelerinden ziyade *Shigella* dizanterisine benzeyen hastalıklara neden olur. Klasik dizanteriden farklı olarak, EHEC dizanterisinde enteroinvazyon bulunmaz ve mukozada inflamasyon vardır¹⁹. Hastalar ateşsizdir. ETEC ve EPEC türleri ile meydana gelen diyareler gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülürken EHEC dizanterisi yakın zamanlara kadar A.B.D. ve Kanada gibi gelişmiş

ülkelerde görülmektedir. Bunun sebebi, EHEC dizanterisinin yeni tanımlanmış olması ve sadece gelişmiş ülkelerde rutin olarak araştırılmakta olmasına bağlıdır. Bazı çalışmalar, EHEC türlerinin Dünyanın her tarafında görülebileceğini düşündürmektedir. EHEC türlerinde de eae genleri vardır ve EPEC türlerinde görülen yapışma ve yoketme fenomenine burada da rastlanır¹⁶ (Şekil 6). EHEC türleri *Shigella* türlerinin sebep olduğu dizanterilere benzer diyarelere neden olmasına rağmen *Shigella*'lar mukoza hücrelerine invaze olurken EHEC türleri olmaz. EHEC türleri, EPEC gibi, in vitro bazı hücre kültürlerinde invazyon yapabilir ancak bu invazyon tipinin önemi bilinmemektedir. EHEC türleri Shiga toksinine identik bir toksin üretir. Bu toksin, EHEC türlerinin oluşturduğu ağır inflamatuvar reaksiyonda rol oynayabilir ve EHEC türlerinin HUS'a sebep olabilme kabiliyetlerini açıklayabilir.

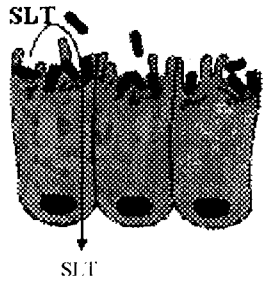
EHEC türleri, **verotoksin (VT)** olarak ta adlandırılan bir SLT üretir². Bu toksin Vero hücre kültüründeki hücrelerde sitopatik etki göstermektedir. EHEC türlerinde iki farklı verotoksin tanımlanmıştır; SLT-I (VT-I) ve SLT-II (VT-II). SLT-I anti-Shiga toksini ile reaksiyon verirken SLT-II vermez. Buna rağmen etki mekanizmaları aynıdır³³. SLT-I, A subünitine bağlı amino asitlerden biri dışında Shiga toksini ile homologdur¹⁷. Diğer toksin ise Shiga toksinine %60 homologluktur.

EHEC türlerinin virülans faktörleri

EHEC ve EPEC türlerinin birçok özellikleri aynıdır. Bu iki türde de aktin reorganizasyonu ve hücreye sıkıca bağlanmayı sağlayan adhezinler vardır. EHEC ve EPEC türlerindeki intimin'i kodlayan eaeA geninin yapısı ve bu genin ürünlerinin fonksiyonu aynıdır (bakterilerin konak hücresine sıkı sıkı yapışmasını sağlar). Şimdiye kadar EPEC ve EHEC türleri arasındaki tek fark, EHEC türlerinin Shiga toksinine identik olan bir toksin üretmesidir². Bu toksine **Shiga-like toksin (SLT)** adı verilir. EHEC infeksiyonlarında görülen kanlı diyare ve HUS'dan SLT sorumludur. Ancak EPEC diyareleri ve EHEC dizanterisi arasında görülen farklı semptom ve komplikasyonları açıklayan diğer faktörler de bulunabilir. SLT'yi kodlayan gen, difteri toksinindeki gibi ılımlı (temperate) bir bakteriyofajla kodlanır¹⁹. Bu gözlem, EHEC infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin yararlı olup olmadığı sorularını gündeme getirmiştir.

Son görülen EHEC diyarelerinden aynı tür izole edilmiş ve bu nedenle bu türün oldukça yeni olduğu sonucuna varılmıştır. SLT, major bir virülans faktörüdür ve bakteriyofajla başka türlere taşınma o türü daha letal bir forma dönüştürmektedir.

EHEC'in virülans başka disseminasyon özellikleri de vardır. Bu özellik hastalığın naklinde önemlidir. Bu nedenle O157:H7 türlerinin sığır ve diğer çiftlik hayvanlarının intestinal traktusuna kolayca kolonize olduğu görülmektedir. Mezbahalarda etlerin ince bağırsak kapsamı ile kontamine edilmesi, daha sonra hamburger yapmak amacıyla etin kıyma yapılması sırasında bakteriler et içine iyice yayılmakta ve bu nedenle kızgın tavada pişirme sırasında et içindeki bakterilerin öldürülme ihtimali azalmaktadır. Son epidemilerin hamburger yiyenlerde görülmesi bu hipotezi desteklemektedir. Bununla birlikte, pastörize edilmeyen süt, elma suyu ve şehir içme suları ile meydana gelen epidemiler bildirilmiştir.



Şekil 6. EHEC virotiplerinin özellikleri⁵.

Yaptığı hastalıklar

EHEC türlerinden ileri gelen hastalıkların dağılımı komplikasyonsuz hafif diyarelerden düşük ateşli/ateşsiz, ağır abdominal ağrı ve kanlı diyare ile seyreden hemorajik kolite değişir^{17,18}. EHEC diyareleri, özellikle yaz aylarında pik yapar ve tüm diyarelerin %3, kanlı diyarelerin %15-36'sının etkenidir¹⁹. Hastalık daha ziyade 5 yaşından küçük çocuklarda görülür. İzolatların serolojik sınıflandırılmasının yararı sınırlıdır. Sadece epidemiyolojik amaçlarla uygulanmalıdır. EHEC türlerinin predominant bir serogrubu vardır (O157:H7)¹⁸. Bu serogrup EHEC türlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur. Diğer serogruplar: O26:K60:H11, O103:H2, O91:H2, O145:H-, O111:K58:H-, O38:H21, O6:H-, O5:H-, O128, O139, O113:K75, O121 ve O172'dir¹⁹. Epidemik ve endemik hastalıkların çoğu az pişmiş biftek veya biftek ürünleri ve pastörize edilmemiş sütlerle

meydana gelmektedir^{1,8,48,50}. Fast food büfelerde satılan hamburgerler ile beslenen çocuklarda EHEC türlerine bağlı ishal epidemileri yayınlanmıştır^{1,48,50}. Epidemilerde ortalama inkübasyon periyodu 4-8 gündür¹⁸. O157:H7 türleri ile meydana gelen infeksiyonlarda akut abdominal ağrı ve kanlı diyareler ortaya çıkar¹⁸. Komplikasyon gelişmeyen hastalarda diyarenin süresi 1 gün ile 12 gün arasında değişir. EHEC infeksiyonlarında komplikasyon gelişmedikçe hastalar ateşsizdir¹⁸. Özellikle lipopolisakkaritle kombinasyon halindeki SLT, bağırsaktan absorbe olur ve bağırsak ve böbrek gibi hedef organlarda vasküler endotelial hücrelerde tahribata neden olarak HUS komplikasyonuna yol açar^{33,51}. HUS; akut renal yetmezlik, trombositopeni ve mikroanjiopatik hemolitik anemi ile seyredir⁴⁷. Hastada ateş ve lökositöz görülmesi halinde HUS komplikasyonunun geliştiği düşünülmelidir. Fatal seyreden bu komplikasyona, genellikle beş yaşından küçük çocuklarda ve yaşlılarda rastlanır. HUS sonucunda ölmeyen hastalarda bile böbrek fonksiyonlarındaki azalma devam eder ve irreversibl böbrek hasarlarına ve nihayet ölüme neden olur. HUS, genellikle diyarenin başlamasından sonraki 5-10. günlerde ortaya çıkar. EHEC infeksiyonlarının %8'inde HUS komplikasyonu görülmektedir¹⁹. EHEC, Kuzey Amerikada görülen HUS vakalarının %75-90'ının nedenidir¹⁹. Epidemilerde vaka-fatalite hızı %2 iken kreşlerde %16-35 arasındadır⁸.

Teşhis metotları

EHEC dizanterisi, klinik tablodan şüphelendikten sonra diğer patojenlerin ekarte edilmesi, sorbitol-MacConkey agarda şeffaf *E.coli* izolatlarının serotiplendirilmesi, doku kültürlerinde veya gen problemleri kullanılarak sitotoksin üretiminin tespit edilmesi ile teşhis edilir^{50,52,53}. EHEC türlerinin tespit edilebilmesi için laboratuvarında rutin olarak sorbitol-MacConkey agar kullanılmalıdır. Sorbitol MacConkey agarda, *E.coli*'lerin yaklaşık olarak %20'si ve normal bağırsak florasında bulunan *Haflnia alvei* ve *Proteus* türleri sorbitol negatiftir. Bu nedenle tüm sorbitol negatif *E.coli*'lerin EHEC türü olmayacağı hatırlanmalıdır. Dizanteriform diyaresi olan hastalara, yiyecek ve turistik seyahatlerle semptomların başlaması arasında ilişki olup olmadığı sorulmalı, sorbitol-MacConkey agara ekimler yapılarak sorbitol negatif koloniler araştırılmalıdır. Semptomların başlangıcından 7-10 gün sonra ve kültür alınmasından önceki 48 saat içinde hastanın antibiyotik kullanmış olması alınan dışkı

Özerol ve ark.

Escherichia coli diyarelerinin patogenezindeki son gelişmeler

örneklerinde EHEC'in izole edilme ihtimalini azaltmaktadır. Sorbitol negatif koloniler varsa bu kolonilerden en az 5'i alınarak *E.coli* O157 antiserumu ile aglütinasyon verip vermediği incelenmelidir. *E.coli* O157 antiserumu ile aglütine olan izolatların biyokimyasal özellikleri de incelenmelidir. Çünkü, *Escherichia hermannii*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas* türleri ve N grubu *Salmonella* lar ve diğer birçok bakteri, *E.coli* O157 antiserumu ile aglütine olmaktadır. *E.coli* O157 türleri, lizin ve ornitin pozitifdir. Ticarete, H7 tiplmeyi sağlayan H7 antiserumu da bulunmaktadır. *E.coli* O157 antiserumu ile aglütine olan izolatların, H7 antiserumu ile reaksiyon verip vermediği de incelenebilir. H7 tipleme için, izolatların motilite besiyerinde en az 4-5 (bazen 10-15) pasajının yapılması ve tüp aglütinasyonu için 1/25.600'e kadar dilüe edilmesi gerekir. Sonuç olarak sorbitol negatif, O157 ve H7 pozitif olan türler EHEC olarak rapor edilmeli diğerleri şüpheli kabul edilmelidir. *E.coli* O157 LPS'ini tespit eden ticari kitler de vardır²⁴. Verotoksin üreten *E.coli* infeksiyonlarının tanısı dışkıda serbest verotoksinlerin gösterilmesi ile veya hastaların dışkısında diğer verotoksijenik türlerin izole edilmesiyle konur.

Tedavi

O157:H7 potansiyel olarak tehlikeli bir hastalık olması nedeniyle hastalığın antibiyotiklerle tedavi edilmesi mantıklı görülebilir. Böylece bakterilerin sayısının azalacağı ve SLT üretiminin azaltılacağı düşünülebilir. Antibiyotik tedavisi iki nedenle kullanılmamalıdır. Birincisi, antibiyotikler etkisiz kalmaktadır. Epidemiy sırasında etkilenen hastalar retrospektif olarak incelenmiş, antibiyotiklerle tedavi edilen ve edilmeyen hastalarda, herhangi bir fark bulunamamıştır. Antibiyotikler hastalığın semptomatik devresini azaltmamış, HUS gelişmesini önlememiş veya bakteri taşıyıcılığını azaltmamıştır. Bu çalışmalar kritize edildiğinde hastalara antibiyotiklerin çok geç dönemde başladığı görülmüştür. Çünkü etken olan O157:H7 idantifiye edildikten sonra antibiyotiklere başlanmaktadır. Bu nedenle, antibiyotik tedavisine başlanıncaya kadar günler geçmektedir. İkincisi, antibiyotik tedavisi, SLT geni taşıyan ve litik sıklusa giren temperate fajları indükleyerek hastalığın daha da ağırlaşmasına neden olabilir. Bunun sonucu, etkilenen her bakteride multipl kopyalar oluşması ve arzulanan aksine, SLT'nin translasyonunda artışa yol açmasıdır.

Hemorajik kolit tedavisi suportiftir, bir çok vaka kendiliğinden düzelir. Antimikrobal tedavi hastalığın seyrini kısaltmaz ve sekel oluşumunu önlemez⁴⁸.

ENTEROİNVAZİV *E.COLI* (EIEC) : EIEC, hücreleri invaze eder. Bu nedenle tipik *E.coli* patojenlerinden oldukça farklıdır. Hücresel invazyonun sonucunda intestinal mukoza tahrip olmakta ve inflamasyon gelişmektedir³⁹. İnflamasyonun klinik sonuçları; EIEC türleri, semptomatoloji bakımından *Shigella* dizanterisinden ayırt edilemeyen bir hastalığa neden olur. EIEC ile kontamine besinlerin yenilmesinden 16-48 saat sonra ateş, abdominal kramplar, kanlı ve lökositli diyareler görülür¹⁸. EIEC türleri, kolon hücrelerine aktif olarak invaze olur ve lateral olarak bitişik hücrelere yayılır (Şekil 7). *Shigella* türleri ve EIEC türlerinin invazyon etapları ve hücreden hücreye yayılma yapıları aynıdır (Şekil 1). *Shigella* türlerinden farklı olarak EIEC türleri SLT üretmez. Bu nedenle, EIEC dizanterisinde HUS komplikasyonu görülmez. ETEC türlerinde olduğu gibi, EIEC ile ilişkili bir çok farklı serogrup bulunmuştur. İnvazyon yapan özel EIEC serogrupları; O28, O52, O112, O115, O124, O136, O143, O145 ve O147 dir. Bunlardan üç serogrup predominanttır. Bu serogruplara, ETEC, EPEC veya EHEC türlerinde rastlanmaz. EIEC hastalıklarının nadir görülmesi bir şanstır. İnvaze olma yeteneği büyük bir plazmit üzerinde genetik olarak kodludur¹⁹.

EIEC türlerinin virülans faktörleri

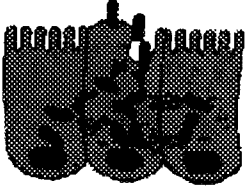
Shiga toksini üretememeleri dışında, EIEC türlerinin bütün özellikleri *Shigella* türlerine benzemektedir. Mukoza hücrelerine invaze olurlar ve *Shigella* larda olduğu gibi hücreden hücreye lateral olarak yayılırlar. Ayrıca, *Shigella* lardaki gibi, virülans için gerekli birçok genler büyük virülans plazmitleri üzerinde kodlanmaktadır. EIEC türlerinin virülansına dair moleküler düzeyde çok az çalışma yapılmış olmasına rağmen elde edilen sonuçlara göre hem EIEC virülans faktörlerinin özellikleri hem de regülasyonunun *Shigella* lardakine identik olduğu anlaşılmıştır.

Teşhis metotları

EIEC laboratuvarında laktozu yavaş fermente eder. Antijenik olarak *Shigella* ile benzerlik gösterir. Bu nedenle EIEC *Shigella* olarak yanlış tanımlara neden

Tablo II. *Escherichia coli* gastroenteritleri

Mikroorganizma adı	Etki yeri	Epidemiyoloji ve hastalıkların özellikleri	Bulaşma yolları ve Patogenez	Virülans faktörleri	Teşhis metotları
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Proksimal ince bağırsak	Az gelişmiş ülkelerdeki infantil diyarelerin ve Turist diyarelerinin en büyük nedenidir. 1-2 gün süren inkübasyon periyodundan sonra abdominal kramplar, bulantı-kusma ve düşük derecede ateşle seyreden koleraya benzer sulu diyarelere sebep olur. Hastalık 5-10 gün sürer.	Kontamine besinler veya su ile bulaşır. Isıya stabil ve/veya labil enterotoksinler salgılar. Sıvı ve elektrolit kaybına neden olan guanil ve adenil siklaz aktivitesini stimüle eder -LT üreten <i>E. coli</i> (LTec) : Adenil siklazı aktive ederek kolera toksini gibi etki yapar. -STa üreten <i>E. coli</i> (STaEC) : cGMP aktivasyonu yapar -STb üreten <i>E. coli</i> (STbEC) : Siklik nükleotidlerden bağımsız olarak bikarbonat sekresyonuna neden olur	Isıya labil (LT) ve ısıya stabil (ST) enterotoksin; LT'in kimyasal yapısı ve etki şekli kolera toksinine benzer; Kolonizasyon faktörleri (CFA) denen fimbrial adhesinleri ve Bfp (longus) pilusları vardır.	1) Serotipleme 2) Toksinlerin tespit edilmesi amacıyla DNA probu, hücre kültürü, lateks aglutinasyon, Tavşan ileal loop testi, süt faresi deneyleri, ve Y1 hücre ELA uygulanır.
Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	Kalın bağırsak mukozası	Erişkin ve infantlarda shigellozise benzeyen diyarelere neden olur. 12-24 saat süren bir inkübasyon periyodundan sonra makroskopik kanlı, cerahatlı ve mukuslu dizanteriyi ateş, tenesim, ağır abdominal kramplar ve sulu diyare takip eder.	Bazen kontamine besin ve su ile bulaşan epidemiler yapar. Patogenez <i>Shigella</i> 'lara benzer. Yani epitelial hücrelere invaze olur ve kolondaki epitelial hücrelerde ölüme sebep olur. İnvazyon özelliği plazmidlerle taşınmaktadır.	İnvazivliği sağlayan bazı dış membran proteinleri <i>Shigella</i> -dakine benzerlik gösterir. Shiga-like toksin (SLT) üretir.	1) Serotipleme 2) Plazmid analizleri 3) HEp-2 hücre kültüründe invazyon incelemeleri 4) Sereniy testi
Enteropatojen <i>E. coli</i> (EPEC)	Proksimal ince bağırsak	Bazı ülkelerde görülen ateş, bulantı, kusma, bol mukuslu ve kansız diyare ile seyreden infantil diyarelerin en önemli nedenidir. Dehidratasyon, şok ve ölüme neden olabilir. Hastalık, erişkinlerde de görülebilir.	Kontamine besin ve su ile bulaşır. Adherans özelliği (EAF, BfpA) plazmid aracılığıyla taşınır. Epitelial hücreler tahrip edilir. Tahrip olan mikrovilluslardaki lezyonlar ayırt ettirici özellik gösterir. eae geni kromozomal olarak kodludur.	<i>Shigella dysenteriae</i> tip I tarafından üretilen Shiga toksinine benzeyen bir sitotoksin üretebilir. Bfp pilusları virülans rol oynayabilir. İntimin denen dış membran proteinleri önemli bir virülans faktörüdür.	1) Serotipleme 2) HEp-2 hücre kültüründe invazyon incelemeleri 3) Floresan aktin boyama (FAS)
Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	Kalın bağırsak	Erişkinlerde ve çocuklarda, sporadik ve epidemik gastroenteritlere neden olur. Ağır abdominal kramplar, başlangıçta sulu diyare daha sonra makroskopik kanlı diyarelerle, düşük ateşle/ateşsiz seyreden hemorajik kolit nedenidir. Genellikle O157:H7 serotipi ile ilişkilidir. Ateş veya fekal lökosit görülmemesi ile <i>Shigella</i> dizanterisinden ayırt edilir. Özellikle çocuklarda HUS komplikasyonu sık görülür. Çiftlik hayvanları EHEC rezervuarı olabilmektedir.	Kontamine besin ve su ile bulaşır (az pişmiş biftek, çiğ süt). Epidemiyolojide, kreşlerde olduğu gibi, kişiden kişiye bulaşabilir. Shiga-like toksinleri vardır. Bunlar Vero hücreleri üzerine toksiktir (Verotoksin). -Shiga-like (Vero) toksin protein sentezini inhibe eder	Shiga-like toksin (SLT) veya Verotoksin denen güçlü toksinler üretir.	1) Serotipleme 2) Hücre kültüründe (Vero) toksin incelemeleri, HeLa hücre kültüründe sitotoksik etkinin araştırılması
Enterogregatif <i>E. coli</i> (EAggEC)	İnce bağırsak	Düşük dereceli ateşle seyreden ve bazen makroskopik kanlı olabilen persistan infantil diyarelere neden olur. Turist diyarelerine de neden olabilir.	Agregatif adherans, plazmid aracılığıyla taşınır.	GVVPQ adhezinleri, Curli pilusları, EAST (ST-like) ve hemolizin-like toksinleri vardır.	1) HEp-2 hücre kültüründe adherans incelemeleri



Şekil 7. EIEC viroplazminin özellikleri⁵.

olur. Lysin negatif ve hareketsiz olması ile ayırt edilir⁵⁰.

EIEC, kolon epiteline invaziv olur ve hücreleri tahrip eder. EIEC gastroenteritleri karakteristik olarak ateş, abdominal kramplar, dışkıda lökosit ve eritrositlerin görüldüğü ishallere seyredir. Hastalık spesifik O serotipleri ile alakalı bulunmuştur, ancak, izolatların serolojik sınıflandırılması invaziv türleri güvenli bir şekilde ayırt ettirmez. İnvazivlik, gen probu ve sereny testi ile teyid edilmelidir⁵¹. Sereny testinde, EIEC olmasından şüphelenilen izolat kobayın gözüne inoküle edilince keratokonjonktivite neden gelişir^{1,55}.

KAYNAKLAR

1. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Medical Microbiology. 2nd ed. Mosby-Year Book Inc 1994;227-40.
2. Hart CA, Batt RM, Saunders JR. Diarrhoea caused by *Escherichia coli*. Ann Trop Paediatr 1993;13(2):121-31.
3. Ogunsanya TI, Rotimi VO, Adenuga A. A study of the aetiological agents of childhood diarrhoea in Lagos, Nigeria. J Med Microbiol 1994;40(1):10-4.
4. Guerrant RL, Bobak DA. Nausea, vomiting, and noninflammatory diarrhea. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 4th ed. Churchill Livingstone. USA 1995; 965-78.
5. Salyers AA, Whitt DD. Bacterial Pathogenesis a molecular approach. ASM Press. Washington, D.C., USA 1994:190-204.
6. Begaud E, Mondet D, Germani Y. Molecular characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) isolated in New Caledonia (value of potential protective antigens in oral vaccine candidates). Res Microbiol 1993;144(9):721-8.
7. Payne D. A study of K88-mediated haemagglutination by enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). Microbiologica 1994;17(2):99-110.
8. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev 1991;13:60-98.
9. Viboud GI, Binsztein N, Svennerholm AM. Characterization of monoclonal antibodies against putative colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* and their use in an epidemiological study. J Clin Microbiol 1993;31(3):558-64.
10. Andziak J. Determination of colonization factor antigens CFA in diagnosis of enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. Med Dosw Mikrobiol 1992;44(3-4):119-27.
11. Giron JA, Levine MM, Kaper JB. Longus: a long pilus ultrastructure produced by human enterotoxigenic *Escherichia coli*. Mol Microbiol 1994;12(1):71-82.
12. Viboud GI, Binsztein N, Svennerholm AM. A new fimbrial putative colonization factor, PCFO20, in human enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect Immun 1993;61(12):5190-7.
13. Kerneis S, Chauviere G, Darfeuille-Michaud A, Aubel D, Coconnier MH, Joly B, et al. Expression of receptors for enterotoxigenic *Escherichia coli* during enterocytic differentiation of human polarized intestinal epithelial cells in culture. Infect Immun 1992;60(7):2572-80.
14. Sommerfelt H, Grewal HM, Gaastra W, Svennerholm AM, Bhan MK. Use of nonradioactive DNA hybridization for identification of enterotoxigenic *Escherichia coli* harboring genes for colonization factor antigen I, coli surface antigen 4, or putative colonization factor O166. J Clin Microbiol 1992 ;30(7):1823-8.
15. Rasheed K, Guzman-Verduzco LM, Kupersztoch YM. Two precursors of the heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli* : Evidence of extracellular processing. Mol Microbiol 1989;4:941-8.
16. Bertin A. Plasmid content and localisation of the STaI (STaP) gene in enterotoxigenic *Escherichia coli* with a non-radioactive polynucleotide gene

- probe. J Med Microbiol 1992;37(2):141-7.
17. Elsinghorst EA, Weitz JA. Epithelial cell invasion and adherence directed by the enterotoxigenic *Escherichia coli* tib locus is associated with a 104-kilodalton outer membrane protein. Infect Immun 1994;62(8):3463-71.
 18. Tauxe RV, Hughes JM. Food-borne disease. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 4th ed. Churchill Livingstone. USA 1995; 1012-24.
 19. Eisenstein BI. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 4th ed. Churchill Livingstone. USA 1995; 1964-80.
 20. Ahmed N, Kamal AM, el-Hamid TA. Comparative study of staphylococcal coagglutination and latex agglutination for detection of enterotoxigenic *Escherichia coli*. J Egypt Public Health Assoc 1993;68(1-2):11-9.
 21. Abe A, Obata H, Matsushita S, Yamada S, Kudoh Y, Bangtrakulnonth A, et al. A sensitive method for the detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction using multiple primer pairs. Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis 1992;277(2):170-8.
 22. Handl CE, Olsson E, Flock JI. Evaluation of three different STb assays and comparison of enterotoxin pattern over a five-year period in Swedish porcine *Escherichia coli*. Diagn Microbiol Infect Dis 1992;15(6):505-10.
 23. Rademaker CM, Rozenberg-Arska M, Fluit AC, Wolfhagen MJ, Glerum JH, Verhoef J. Detection of diarrhea-causing *Escherichia coli* using DNA-probes. Ned Tijdschr Geneesk 1992 26;136(52):2581-4.
 24. SCASM. Foodborne Diseases due to *E. coli* O157:H7. Annual Meeting November 1993.
 25. Murray B, Mathewson J, Dupont H, et al. Utility of oligodeoxyribonucleotide probes for detecting enterotoxigenic *Escherichia coli*. J Infect Dis 1987;155:809-11.
 26. Giannella RA. Sucling mouse model for detection of heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin: Characteristics of the model. Infect Immun 1976;14:95.
 27. Arduino RC, Du Pont HL Travellers' diarrhoea. Baillieres Clin Gastroenterol 1993;7(2):365-85.
 28. Itzchak S, Jacob B, Avraham R, Ben-Ami P. Enhancement of the immune response by intradermal vaccination in cattle with enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccine without adjuvant. Vaccine 1992;10(4):217-20.
 29. Rudin A, Svennerholm AM. Colonization factor antigens (CFAs) of enterotoxigenic *Escherichia coli* can prime and boost immune responses against heterologous CFAs. Microb Pathog 1994 ;16(2):131-9.
 30. Wenneras C, Svennerholm AM, Czerkinsky C. Vaccine-specific T cells in human peripheral blood after oral immunization with an inactivated enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine. Infect Immun 1994;62(3):874-9.
 31. Wenneras C, Svennerholm AM, Ahren C, Czerkinsky C. Antibody-secreting cells in human peripheral blood after oral immunization with an inactivated enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine. Infect Immun 1992;60(7):2605-11.
 32. Ahren C, Wenneras C, Holmgren J, Svennerholm AM. Intestinal antibody response after oral immunization with a prototype cholera B subunit-colonization factor antigen enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine. Vaccine 1993;11(9):929-34.
 33. Hewlett EL. Toxins and other virulence factors. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 4th ed. Churchill Livingstone. USA 1995; 2-11.
 34. Bhatnagar S, Bhan MK, Sommerfelt H, Sazawal S, Kumar R, Saini S. Enteroggregative *Escherichia coli* may be a new pathogen causing acute and persistent diarrhea. Scand J Infect Dis 1993;25(5):579-83.
 35. Savarino SJ, Fasano A, Watson J, Martin BM, Levine MM, Guandalini S, et al. Enteroggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90(7):3093-7.
 36. Drolet R, Fairbrother JM, Harel J, Helie P. Attaching and effacing and enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with enteric colibacillosis in the dog. Can J Vet Res 1994;58(2):87-92.
 37. Rosenshine I, Donnenberg MS, Kaper JB, Finlay BB. Signal transduction between enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and epithelial cells: EPEC induces tyrosine phosphorylation of host cell proteins to initiate cytoskeletal rearrangement and bacterial uptake. EMBO J 1992;11(10):3551-60.
 38. Knutton S, Baldwin T, Williams P, Manjarrez-

- Hernandez A, Aitken A. The attaching and effacing virulence property of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis* 1993;278(2-3):209-17.
39. Giron JA, Ho ASY, Schoolnik GK. An inducible bundle-forming pilus of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Science* 1991;254:710-3.
40. Giron JA, Ho AS, Schoolnik GK. Characterization of fimbriae produced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1993;175(22):7391-403.
41. Giron JA, Donnenberg MS, Martin WC, Jarvis KG, Kaper JB. Distribution of the bundle-forming pilus structural gene (bfpA) among enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1993;168(4):1037-41.
42. Hsia RC, Small PL, Bavoil PM. Characterization of virulence genes of enteroinvasive *Escherichia coli* by TnphoA mutagenesis: identification of invX, a gene required for entry into HEp-2 cells. *J Bacteriol* 1993;175(15):4817-23.
43. Louie M, de Azavedo JC, Handelsman MY, Clark CG, Ally B, Dytoc M, et al. Expression and characterization of the eaeA gene product of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *Infect Immun* 1993;61(10):4085-92.
44. Foubister V, Rosenshine I, Finlay BB. A diarrheal pathogen, enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), triggers a flux of inositol phosphates in infected epithelial cells. *J Exp Med* 1994;179(3):993-8.
45. Jerse A, Martin W, Galen J, et al. Oligonucleotide probe for the detection of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *J Clin Microbiol* 1990;28:2842-4.
46. Schmidt H, Plaschke B, Franke S, Rusmann H, Schwarzkopf A, Heesemann J, et al. Differentiation in virulence patterns of *Escherichia coli* possessing eae genes. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1994;183(1):23-31.
47. Cordovez A, Prado V, Maggi L, Cordero J, Martinez J, Misraji A, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated with hemolytic-uremic syndrome in Chilean children. *J Clin Microbiol* 1992;30(8):2153-7.
48. Cohen MB, Giannella RA. Hemorrhagic colitis associated with *Escherichia coli* O157:H7. *Adv Intern Med* 1992;37(1):173-95.
49. Edelman R, Karmali MA, Fleming PA. Summary of the International Symposium and Workshop on Infections due to Verocytotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1988;157:1102-4.
50. Guerrant RL. Inflammatory enteritides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease, 4th ed. Churchill Livingstone USA 1995; 987-98.
51. Boyd B, Lingwood C. Verotoxine receptor glycolipid in human renal tissue. *Nephron* 1989;51:207-10.
52. Woods GL, Washington JA. The clinician and the microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease, 4th ed. Churchill Livingstone USA 1995; 169-98.
53. March SB, Ratnam S. Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol* 1989;27:1675-7.
54. Vankatesen M, Buysse J, Vanderies E, et al. Development and testing of invasion-associated DNA probes for detection of *Shigella* spp and enteroinvasive *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1988;26:261-6.
55. Chinen I, Rivas M, Caffer MI, Cinto RO, Binsztain N. Diagnosis of entero-invasive *Escherichia coli* associated with diarrhea. *Rev Argent Microbiol* 1993;25(1):27-35.

Yazışma adresi : Yrd.Doç.Dr.İ.Halil ÖZEROL
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve K1.Mikr.ABD
44300 MALATYA