



Akut İshalli Çocuklarda Diyarejenik *Escherichia coli* İzolatlarının Sıklığı

The Frequency of Diarrheagenic *Escherichia coli* Isolates in Children with Acute Diarrhea

Ayşegül Koç (ID), Salih Maçın (ID), Hatice Türk Dağı (ID)

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Makale atfı: Koç A, Maçın S, Türk Dağı H. Akut ishalli çocuklarda diyarejenik *Escherichia coli* izolatlarının sıklığı. J Pediatr Inf 2025;19(2):71-77.

Öz

Abstract

Giriş: Bu çalışmanın amacı Konya, Türkiye’de, beş yaş altı çocuklarda 2019 yılında, akut ishale yol açan diyarejenik *Escherichia coli* patotiplerinin [enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC) ve diffüz adheran *E. coli* (DAEC)] sıklığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 1 Ocak-31 Aralık 2019 tarihleri arasında gönderilen akut ishalli beş yaş altı çocuklardan alınan 3064 dışkı örneği tarandı. Üç yüz on iki çocuğun dışkısında baskın üreyen *E. coli* izolatları çalışmaya alındı. *E. coli* konvansiyonel yöntemler ve VITEK® 2 compact otomatize sistemi ile tanımlandı. DNA izolasyonu, ticari bir kitle yapıldı. *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aatA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx1* ve *stx2* primerleri gerçek zamanlı multiplex polimer zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çalışıldı. Bir izolatta *eae* genin saptanması aEPEC, *eae* ve *pEAF* genlerinin saptanması tEPEC, *stx1* ve/veya *stx2* genlerinin saptanması STEC, *eae*, *stx1* ve/veya *stx2* genlerinin saptanması EHEC, *elt* ve/veya *est* genlerinin saptanması ETEC, *ipaH* genin saptanması EIEC, *aatA* genin saptanması EAEC ve *daaC* geninin saptanması DAEC olarak tanımlandı. Gerçek zamanlı multiplex PZR, monopleks PZR ve jel elektroforezi ile doğrulandı.

Bulgular: Toplam 312 *E. coli* izolatının 56’sında tek, 254’ünde miks patotip saptanırken iki izolat tiplendirilemedi. Üç yüz on örnekte 281 DAEC, 187 EPEC, 159 EAEC, 43 EIEC, 31 EHEC, dört ETEC ve iki STEC saptandı. En sık tespit edilen tekli patotipler DAEC (47) ve EAEC (7) iken miks patotipler DAEC+EPEC+EAEC (108), DAEC+EPEC (58) ve DAEC+EIEC (24) olarak belirlendi.

Objective: This study aimed to detect the frequency of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes [enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) and diffuse adherence *E. coli* (DAEC)] in children with acute diarrhea under five years in Konya, Türkiye.

Material and Methods: Three thousand and sixty-four stool samples taken from children with acute diarrhea under the age of five years sent to the Medical Microbiology Laboratory of the Medical Faculty Hospital, Selçuk University between 1 January and 31 December 2019 were scanned. *E. coli* isolates were included in the study that predominantly growing in the feces of 312 children. *E. coli* was defined by conventional methods and VITEK® 2, compact automated system. DNA isolation was performed with a commercial kit. The primers of *eae*, *pEAF*, *daaC*, *aatA*, *elt*, *est*, *ipaH*, *stx1* and *stx2* genes were studied by real-time multiplex polymerase chain reaction (PCR) method. Detection of *eae* plus *pEAF* genes was accepted typical EPEC (tEPEC), only *eae* atypical EPEC (aEPEC), *stx1* and/or *stx2* genes STEC, *eae* plus *stx1* and/or *stx2* genes EHEC, *elt* and/or *est* genes ETEC, *ipaH* gene EIEC, *aatA* gene EAEC and *daaC* gene DAEC. Results were confirmed by monoplex PCR and gel electrophoresis.

Results: Of the 312 *E. coli* isolates, 56 had single pathotype, 254 had mixed pathotypes and two isolates could not be typed. Two hundred and eighty-one DAEC, 187 EPEC, 159 EAEC, 43 EIEC, 31 EHEC, four ETEC and two STEC were detected in 312 samples. The most frequently detected single pathotypes were DAEC (47) and EAEC (7), while mixed

Yazışma Adresi/Correspondence Address

Salih Maçın

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Konya, Türkiye

E-mail: salihmacin@hotmail.com

Geliş Tarihi: 15.08.2024 Kabul Tarihi: 14.10.2024

Çevrim İçi Yayın Tarihi: 27.06.2025

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazarın temin edilebilir.

*Telif Hakkı 2025 Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ve Bağışıklama Derneği. Makale metnine www.cocukenfeksiyon.org web sayfasından ulaşılabilir.

Sonuç: Konya, Türkiye’de beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda DAEC’in baskın patotip olduğu ve miksenfeksiyonlar da ise en sık DAEC+EPEC+EAEC birlikteliği saptanmıştır. Bu çalışma Türkiye’de tüm diyarejenik *E. coli* patotiplerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı tek merkezli olmasıdır. Türkiye’de hangi patotiplerin yaygın olduğunun belirlenmesi için çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Akut ishal, diyarejenik *Escherichia coli*, multipleks polimeraz zincir reaksiyon

Giriş

Akut ishal, alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra çocukluk çağı morbidite ve mortalitesinin en yaygın nedenidir ve tüm dünya için önemli bir halk sağlığı sorunudur (1). Her yıl dünya çapında 1.700.000 ishal vakası bildirilmekte ve 0-5 yaş arası çocuklarda 525.000 ölüm gerçekleşmektedir (2). *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridioides difficile* ve *Campylobacter* spp. gibi çeşitli bakteriyel ajanlar; rotavirüs, adenovirüs ve norwalk virüs gibi viral ajanlar; *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Blastocystis hominis* gibi protozoal parazitler ishale neden olabilir (3). Bakteriyel etkenler arasında ishal yapıcı *E. coli* (DEC) gelişmekte olan ülkelerde, özellikle beş yaş altı çocuklarda ishalin başlıca nedenlerinden biridir (4).

İshal yapıcı *E. coli* çocuklarda ishalin önemli bir nedenidir (5). İshal yapıcı *E. coli* izolatları, farklı klinik tablolara neden olan ve bir dizi virülans faktörü taşıyan çeşitli patojen tiplerine sahiptir. İshal yapıcı *E. coli* suşları genel olarak altı patotipte sınıflandırılır: Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC) dahil enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), diffüz yapışık *E. coli* (DAEC). Enteropatojenik *E. coli* suşları, EAF plazmidinin varlığı veya yokluğuna göre tipik EPEC (tEPEC) ve atipik EPEC (aEPEC) suşları olarak ikiye ayrılır (6).

Bazı *E. coli* türlerinin akut ishal etiolojisindeki rolü her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda patojen *E. coli* patotiplerini normal bağırsak mikrobiyota elemanlarından ayıran virülans faktörlerinin saptanması hastalığın tanı ve tedavisi için önemlidir.

Ülkemizde ishale neden olan patojen *E. coli*’nin prevalansı ve önemi ile ilgili veriler sınırlıdır. Bu suşların tanımlanması epidemiyolojik çalışmalara, hastalığın tanı ve tedavisine önemli katkı sağlayacaktır. Bu patojenlerin prevalansı ve epidemiyolojik özellikleri aynı ülke içinde bile farklı bölgelerde farklılık göstermektedir. Bu çalışmanın amacı, Konya, Türkiye’de akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda DEC patotiplerinin (EPEC, ETEC, EIEC, STEC, EHEC, EAEC ve DAEC) sıklığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler

Sulu, kanlı veya mukoid 3064 dışkı örneği Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına

patotipleri DAEC+EPEC+EAEC (108), DAEC+EPEC (58) and DAEC+EIEC (24) respectively.

Conclusion: DAEC was single and also DAEC plus tEPEC/aEPEC plus EAEC were mixed predominant pathotypes in the diarrheagenic *E. coli* isolates in children with acute diarrhea under five years in Konya, Türkiye. This is the first study to investigate all diarrheagenic *E. coli* pathotypes in Türkiye. The most important limitation of our study is that single-centered. Multicentre studies are needed to determine which pathotypes are common in Türkiye.

Keywords: Acute diarrhea, diarrheagenic *Escherichia coli*, multiplex polymerase chain reaction

1 Ocak-31 Aralık 2019 tarihleri arasında beş yaş altı çocuklarda taranmıştır. *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, rotavirüs, adenovirüs ve parazit içermeyen akut ishalleri 310 çocuğun dışkı örneği çalışmaya dahil edildi. *E. coli* izolatları konvansiyonel yöntemler (motilite, indol, simmons sitrat, TSI, üreaz ve oksidaz testleri) ve VITEK® 2 otomatize sistemi (Biomérieux, Fransa) ile tanımlanmıştır.

DNA izolasyonu Genomik DNA izolasyon kiti (RTALABS, Türkiye) protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlar steril eppendorf tüplerine aktarılmış ve moleküler analiz yapılabildiği kadar -40 °C’de saklanmıştır. Her çalışmada negatif ve ekstraksiyon kontrolleri kullanılmıştır.

Gerçek zamanlı multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) Light-Cycler 96 (Roche, Almanya) termal döngüleyicide gerçekleştirilmiştir. Her 40 µl reaksiyon karışımı 20 µl Fast essential DNA green master mix (Roche, İsviçre) ve 2 µl DNA içermektedir. Win 7+Win XP işletim sistemleri kullanılarak, mutlak kantifikasyon modülü ile amplifikasyon eğrileri ve TM arama uç noktası genotipleme HRM ve Qual Detection ile erime eğrileri analiz edilmiştir.

İntimin (*eae*), demet oluşturan pilus geni (*pEAF*), diffusely adherent gen (*daaC*), agregatif gen (*aata*), enterolabile toksin (*elt*), enterostable toksin (*est*), invaziv plazmid antijen H (*ipaH*), Shiga toksin 1 (*stx1*) ve Shiga toksin 2 (*stx2*) primerleri gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile çalışılmıştır. Erime analizi tüm hedef genler için dokuz farklı pik göstermiştir. Tespit edilen *eae*+*pEAF* genleri tEPEC, sadece *eae* geni aEPEC, *stx1* ve/veya *stx2* genleri STEC, *eae*+*stx1* ve/veya *stx2* genleri EHEC, *elt* ve/veya *est* genleri ETEC, *ipaH* geni EIEC, *aata* geni EAEC ve *daaC* geni DAEC olarak kabul edilmiştir. Real-time multipleks PZR, monopleks PZR ve jel elektroforezi ile doğrulanmıştır.

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun 26.09.2018 tarih ve 2018/326 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verileri istatistiksel olarak analiz etmek için SPSS Statistics 21 (Windows 32 bit) yazılımı kullanılarak ki-kare testi ve gerektiğinde Fisher’in kesin testi kullanıldı. p değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Üç bin altmış dört çocuğun dışkı örnekleri taranmış ve 310 *E. coli* izolatı patotiplendirilmiştir. Diffüz yapışık *E. coli* 281 (%90.6), EPEC 187 (%60.4), EAEC 159 (%51.3), EIEC 43 (%13.9), EHEC/STEC 33 (%10.6) ve ETEC 4 (%1.3) hastada tespit edilmiştir.

Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde ise şu bulgular elde edilmiştir: 100'ü sıfır (%32.4) yaşında, 73'ü bir (%23.5) yaşında, 50'si iki (%16.1) yaşında, 59'u üç (19.0) yaşında, 14'ü dört (%4.5) yaşında ve 14'ü beş (%4.5) yaşında bulunmuştur. Yaşlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.000$). Erkeklerin sayısı kızlardan daha fazla

bulunmuştur [174 (%56.1) erkek, 136 (%43.9) kız] ve cinsiyetler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0.031$).

Diyarejenik *E. coli* türleri, yaz (%40.0) ve ilkbaharda (%26.4), diğer mevsimlere [sonbahar (%19.4) ve kış (%14.2)] kıyasla daha yüksek oranda tespit edilmiştir. En yüksek oranlar haziran (%12.3), temmuz (%15.8) ve ağustos (%11.9) aylarında, en düşük oranlar ise aralık (%4.5), ocak (%6.5) ve şubat (%3.2) aylarında gözlenmiştir. Aylar ve vaka sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.000$).

İshal yapıcı *E. coli* patotiplerinin aylara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Aylar ile EPEC, EAEC, EIEC ve EHEC arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.000$).

Tablo 1. Diyarejenik *Escherichia coli* patotiplerinin aylara göre dağılımı

Patotipler	DAEC	aEPEC	tEPEC	EAEC	EIEC	EHEC	STEC	ETEC	Toplam
Aylar	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Ocak	18 (6.4)	6 (4.0)	0 (0.0)	4 (2.5)	1 (2.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (6.5)
Şubat	9 (3.2)	1 (0.7)	0 (0.0)	2 (1.3)	5 (11.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	10 (3.2)
Mart	10 (3.6)	1 (0.7)	0 (0.0)	7 (4.4)	3 (7.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	13 (4.2)
Nisan	28 (10.0)	2 (1.3)	1 (2.6)	7 (4.4)	21 (48.8)	2 (6.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	33 (10.6)
Mayıs	31 (11.0)	10 (6.7)	1 (2.6)	14 (8.8)	10 (23.3)	9 (29.0)	1 (50.0)	1 (0.25)	36 (11.6)
Haziran	33 (11.7)	7 (4.7)	24 (63.2)	12 (7.5)	1 (2.3)	7 (22.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	38 (12.3)
Temmuz	45 (16.0)	30 (20.1)	12 (31.6)	28 (17.6)	1 (2.3)	5 (16.1)	0 (0.0)	2 (0.50)	49 (15.8)
Ağustos	35 (12.5)	33 (22.1)	0 (0.0)	29 (18.2)	0 (0.0)	4 (12.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	37 (11.9)
Eylül	23 (8.2)	18 (12.1)	0 (0.0)	21 (13.2)	1 (2.3)	4 (12.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	23 (7.4)
Ekim	20 (7.1)	20 (13.4)	0 (0.0)	16 (10.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (6.5)
Kasım	17 (6.0)	16 (10.7)	0 (0.0)	12 (7.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.25)	17 (5.5)
Aralık	12 (4.3)	5 (3.4)	0 (0.0)	7 (4.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	14 (4.5)
Toplam	281 (90.6)	149 (48.1)	38 (12.3)	159 (51.3)	43 (13.9)	31 (10)	2 (0.6)	4 (1.3)	310 (100.0)
p	0.288	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011	0.216	0.607	0.000

DAEC: Diffüz aderan *E. coli*, aEPEC: Atipik EPEC, tEPEC: Tipik EPEC, EAEC: Enteroagregatif *E. coli*, EIEC: Enteroinvaziv *E. coli*, EHEC: enterohemorajik *E. coli*, STEC: Shiga toksin üreten *E. coli*, ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*.

Tablo 2. Diyarejenik *E. coli* patotiplerinin yaşa göre dağılımı

Patotip	0 n (%)	1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)	4 n (%)	5 n (%)	Toplam n (%)	p
aEPEC	47 (31.5)	37 (24.8)	21 (14.1)	28 (18.8)	9 (6.0)	7 (4.7)	149 (100.0)	0.778
tEPEC	12 (31.6)	10 (26.3)	6 (15.8)	7 (2.3)	0 (0.0)	3 (7.9)	38 (100.0)	0.668
ETEC	1 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)	0.121
EHEC	11 (35.5)	8 (25.8)	5 (16.1)	6 (19.4)	1 (3.2)	0 (0.0)	31 (100.0)	0.867
STEC	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	0.517
EIEC	12 (27.9)	11 (25.6)	5 (11.6)	11 (25.6)	2 (4.7)	2 (4.7)	43 (100.0)	0.630
EAEC	48 (30.2)	38 (23.9)	23 (14.5)	34 (21.4)	9 (5.7)	7 (4.4)	159 (100.0)	0.713
DAEC	91 (32.4)	65 (23.1)	46 (16.4)	53 (18.9)	13 (4.2)	13 (4.2)	281 (100.0)	0.990
Toplam	100 (32.4)	73 (23.5)	50 (16.1)	59 (19.0)	14 (4.5)	14 (4.5)	310 (100.0)	0.000

aEPEC: Atipik EPEC, tEPEC: Tipik EPEC, ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*, EHEC: Enterohemorajik *E. coli*, STEC: Shiga toksin üreten *E. coli*, EIEC: Enteroinvaziv *E. coli*, EAEC: Enteroagregatif *E. coli*, DAEC: Diffüz aderan *E. coli*.

Diyarejenik *E. coli* patotiplerinin yaşa göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. Yaşlar ve DEC patotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Cinsiyet ve DEC patotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Üç yüz on *E. coli* izolatının 56'sında tek patotip, 254'ünde ise karışık patotip tespit edilmiştir.

Tartışma

Patojenik *E. coli*'ye bağlı gastrointestinal enfeksiyonlar, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda olmak üzere dünya çapında salgınların ve sporadik vakaların önemli bir nedenidir (7,8). Dünya genelinde DEC enfeksiyonu sıklığındaki farklılıklar; çalışma popülasyonları, coğrafi bölge ve sosyoekonomik sınıflar, yaş dağılımları, tanıda kullanılan yöntemlerden kaynaklanmaktadır (Tablo 3).

Genç hastaların DEC enfeksiyonlarına daha yatkın olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum yaşa bağlı bağışıklığa bağlanmıştır. Muni ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Hindistan'da DEC izolatlarının yaşa göre dağılımı incelenmiş ve DEC izolatlarının 0-12 yaş ve 49-60 aylık çocuklarda daha yaygın olduğunu tespit etmiştir (9). Patzi-Vargas ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Meksika'da beş yaşın altında ishali 831 çocukta DEC izolatlarının yaşa göre prevalansını incelenmiş, %23'ünün altı aydan küçük, %30'unun 6-12 aylık, %27'sinin 13-24 aylık ve %31'inin 24 aydan büyük olduğu tespit edilmiştir. Enteroagregatif *E. coli* patotipinin altı aydan küçük çocuklarda 6-24 ay arasında daha yaygın olduğu ($p = 0.008$) ve 13-24 aylık çocukların diğer yaş grupların-

daki çocuklara göre daha az karışık DEC enfeksiyonuna sahip olduğu bulunmuştur ($p = 0.012$). Altı aydan küçük çocuklarda tEPEC suşlarıyla daha sık enfekte olma eğilimindeydi ($p = 0.052$) (10). Canizalez-Roman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Meksika'da 0-99 yaş grubunda akut ishali DEC izolatlarının dağılımı incelenmiş ve DEC suşlarının ≤ 2 yaş çocuklarda daha yaygın olduğunu tespit edilmiştir (7). Hindistan'da, Mandal ve arkadaşları çalışmalarında DEC izolatlarının bir yaşındaki çocuklarda daha yaygın olduğunu ve yaşla birlikte daha az görüldüğünü tespit etmiştir (11). Çin'de, Zhou ve arkadaşları çalışmalarında, DEC izolatlarının 0-11 aylık çocuklarda daha yaygın olduğunu bulmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca, baskın patotip olan EPEC, 24 ayın altındaki çocuklarda daha yaygın olma eğilimindedir (%66.7) (4). Çalışmamızda 310 DEC patotipinin yaş dağılımı incelendiğinde %32.4'ünün 0 yaşında, %23.5'inin bir yaşında, %16.1'inin iki yaşında, %19'unun üç yaşında, %4.5'inin dört yaşında ve %4.5'inin beş yaşında olduğu belirlenmiştir. İshal yapıcı *E. coli* suşları ≤ 1 yaş çocuklarda daha yaygın bulunmuştur, muhtemelen yaş ilerledikçe bağışıklığın artması nedeniyle daha az saptanmıştır.

İshal yapıcı *E. coli* vakalarının cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, beş yaşın altındaki erkek hastaların kadın hastalara göre enfeksiyona daha yatkın olduğu ve bazı çalışmalarda bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Mandal ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, DEC vakalarının cinsiyete göre dağılımı incelenmiş, 348 (%54.9)'inin erkek, 285 (%45.1)'inin kız olduğu tespit edilmiş ve DEC vakaları ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki

Tablo 3. Literatürdeki çalışmalara göre DEC patotiplerinin dağılımı

	Ülke	Yaş	Örnek Sayısı	DEC n (%)	EPEC n (%)	EAEC n (%)	ETEC n (%)	DAEC n (%)	EHEC n (%)	STEC n (%)	EIEC n (%)	Mix n (%)
Muni ve ark. (2014)	Hindistan	<5	120	110 (91.6)	54 (49.1)	12 (10.9)	6 (5.5)	38 (34.5)	1 (1.5)			
Tobias ve ark. (2015)	İsveç	<5	307	59 (19.2)	28 (47.5)	27 (46.0)	3 (5.0)					
Canizalez-Roman ve ark. (2016)	Meksika	0-99	1037	242 (23.3)	53 (21.9)	126 (52.1)	43 (17.8)	15 (6.2)		3 (1.2)	2 (0.8)	
Mandal ve ark. (2017)	Hindistan	<5	633	191 (30.2)	16 (8.4)	132 (69.1)	20 (10.5)		5 (2.6)		3 (1.6)	15 (7.8)
Konaté ve ark. (2017)	Burkina Faso	<5	192	31 (7.4)	8 (25.8)	15 (48.5)	1 (3.2)		3 (9.6)		4 (12.9)	
Singh ve ark. (2017)	Hindistan	<5	120	106 (88.3)	87 (72.5)	76 (63.33)	55 (45.83)		11 (9.16)		3 (1.6)	
Zhou ve ark. (2018)	Çin	<5	684	54 (7.9)	27 (50.0)	11 (20.9)	8 (14.8)		2 (3.7)		2 (3.7)	4 (7.4)
Tutak ve Tuğrul (2015)	Türkiye	0-99	1318	29 (10.3)	2 (75.0)		1 (25.0)					
Bu çalışma	Türkiye	<5	3064	310 (100.0)	187 (60.4)	159 (51.3)	4 (1.3)	281 (90.6)	31 (10.0)	43 (13.9)	2 (0.6)	

DEC: İshal yapıcı *Escherichia coli*, EPEC: Enteropatojenik *E. coli*, EAEC: Enteroagregatif *E. coli*, ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*, DAEC: Diffüz aderan *E. coli*, EHEC: Enterohemorajik *E. coli*, STEC: Shiga toksin üreten *E. coli*, EIEC: Enteroinvaziv *E. coli*.

bulunmuştur (11). Singh ve arkadaşları çalışmalarında, akut ishalleri beş yaş altı 120 çocuğun 73 (%60.8)'ünün erkek, 47 (%39.2)'sinin kız olduğunu tespit etmiştir (12). Çalışmamızda, 310 DEC hastasının cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde 174 (%56.1)'ünün erkek, 136 (%43.9)'sinin kız olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.031$).

İshal yapıcı *E. coli* vakalarının mevsimsel değişimleri incelendiğinde, özellikle ilkbahar/yaz döneminde yaygın olduğu; sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörlerle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Patzi-Vargas ve arkadaşları çalışmalarında, Meksika'da DEC izolatlarını en sık ilkbahar ve yaz mevsimlerinde tespit etmişlerdir (10). Çin'de, Zhou ve arkadaşları çalışmalarında, DEC (54) vakalarının mevsimsel dağılımını incelemiş ve yaz (%33.4), ilkbahar (%14.8), kış (%12.9) ve sonbaharda (%38.9) tespit etmişlerdir (4). Çalışmamızda, DEC'in daha çok yaz ve ilkbahar mevsimlerinde görüldüğü, sıcaklık ve nemin DEC enfeksiyonu gelişimini etkilediği saptanmış ve diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

İshal yapıcı *E. coli* patotiplerinin sıklığı incelendiğinde altıncı patotip ishal ile ilişkili DAEC olarak bilinmektedir. Ochoa ve arkadaşları çalışmalarında, 95 DEC patotipi arasında 30 (%31.6) DAEC tespit etmişlerdir (13). Muni ve arkadaşları çalışmalarında, Bihar'ın Katihar, Kosi bölgesinde ishalleri beş yaş altı 120 çocuğun 110 (%91.6)'unda DEC patotipi tespit etmiş, bunların %34.5'i DAEC'tir (9). Çalışmamızda tespit edilen en yaygın patotip %90.6 oranıyla DAEC'tir. Bu bulgular DAEC'in bölgemizde yaygın bir patotip olduğunu göstermektedir. Ancak ülkemizde DAEC enfeksiyonlarının sıklığına ilişkin veri bulunmadığından DAEC epidemiyolojisi belirsizliğini korumaktadır.

Enteropatojenik *E. coli*, dünya çapında ishale neden olma-ya ve iki yaşın altındaki çocuklar için ciddi bir risk oluşturmaya devam etmektedir. Tobias ve arkadaşları tarafından İsveç'te yapılan bir çalışmada, beş yaş altı ishalleri hastalarda 59 (%19.2) DEC saptanmış ve izolatların yaklaşık yarısı (%47.5) EPEC patotipi olmuştur (14). Wang ve arkadaşları tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada, üç grup ishalleri hasta (Henan'dan 755 beş yaş altı çocuk, Pekin'den 1422 beş yaş altı çocuk ve 1047 18 yaş üstü yetişkin) çalışmaya dahil edilmiştir. Enteropatojenik *E. coli*, çocuklarda en yaygın (Pekin'de %4.5, Henan Eyaleti'nde %3.6), yetişkinlerde ise ikinci en yaygın (%2.1) etken olarak bulunmuştur (15). Bozçal ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, İzmir'de 62'si çocuk, 40'ı yetişkin olmak üzere 102 hastanın dışkı örneklerinde 146 *E. coli* tespit edilmiştir. İshal yapıcı *E. coli* patotipleri arasında EPEC ve STEC incelenmiş ve 3 (%2.05)'ünün EPEC suşu olduğu bildirilmiştir (16). Çalışmamızda akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda saptanan DEC izolatlarının %60.4'ünde EPEC saptanmıştır. Bu bulgular EPEC'in bölgemizde en yaygın ikinci patotip olduğunu göstermiştir.

Uzun yıllar boyunca aEPEC'in gelişmekte olan ülkelerde nadir görülmesine rağmen sanayileşmiş ülkelerde baskın olduğu

düşünülmüştür (17). Ancak son veriler, aEPEC enfeksiyonlarının hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde tEPEC ishallerinden daha yaygın olduğunu göstermiştir (12). Tobias ve arkadaşları çalışmalarında, 59 DEC izolatının yaklaşık yarısının (%46) aEPEC olduğunu bildirmiştir (14). Türkiye'de, Bozçal ve arkadaşları çalışmalarında 102 ishalleri hastada tespit edilen EPEC suşlarının tamamının (%2.05) aEPEC olduğunu bulmuşlardır (16). Çalışmamızda, DEC izolatlarında %79.7'si aEPEC ve %20.3'ü tEPEC olmak üzere %60.4 oranında EPEC tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, diğer çalışmalarla tutarlı olarak, aEPEC patotipinin tEPEC patotipinden daha yaygın olduğunu göstermiştir.

Enterogregatif *E. coli* suşları hem gelişmekte olan hem de sanayileşmiş ülkelerde turist ishalleri ile ilişkilendirilmiştir. Enterogregatif *E. coli* akut ve kronik ishalden sorumlu bir patojendir (18-20). Hindistan'da yapılan bir çalışmada, ishalleri beş yaş altı 120 çocuğun 110 (%91.6)'unda DEC saptanmış ve ikinci en yaygın DEC patotipi (%10.9) EAEC olarak bulunmuştur (9). Tobias ve arkadaşları İsveç'te yaptıkları bir çalışmada, beş yaş altı 307 ishalleri hastada EAEC'nin ikinci en yaygın DEC patotipi (%46) olduğunu belirlemişlerdir (14). Mandal ve arkadaşları tarafından Bihar'da, Konaté ve arkadaşları tarafından Burkina Faso'da yapılan çalışmalarda beş yaş altı ishalleri çocuklarda tespit edilen en yaygın patotipin EAEC (%69.1-%48.5) olduğu bulunmuştur (11). Bizim çalışmamızda da EAEC (%51.3) beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda DEC patotipleri arasında en sık görülen patotiplerden biri olmuştur ve diğer ülkelerle tutarlıdır.

Enteroinvaziv *E. coli* gelişmekte olan ülkelere endemik enfeksiyonlara, gelişmiş ülkelere ise sporadik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Wang ve arkadaşları tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada, EIEC'nin (Pekin'deki çocuklarda %0.35, yetişkinlerde %0.48 ve Henan'daki çocuklarda %0.3) ishalleri üç hasta grubunda üçüncü en yaygın patotip olduğu bulunmuştur (15). Konaté ve arkadaşları tarafından Burkina Faso'da yapılan bir çalışmada, beş yaş altı akut ishalleri 315 çocukta EIEC'in (%12.9) üçüncü sırada yer aldığını ve en yaygın patotipler arasında olduğunu belirtmiştir (6). Tutak ve Tugrul tarafından Türkiye'de yapılan bir çalışmada, farklı yaş gruplarında ishal şikayeti olan 1318 hastadan 254'ünde *E. coli* tespit edilmiştir. Lam aglütinasyon testi ile tanı konulan 11 EIEC (%5.4) patotipinde moleküler yöntemle EIEC virülans geni saptanamamıştır (20). Çalışmamızda DEC patotiplerinde saptanan etkenler arasında EIEC (%13.9) dördüncü sırada yer almaktadır.

Enterohemorajik *E. coli* prevalansı özellikle gelişmiş ülkelere, beş yaş altı çocuklarda ve yaz mevsiminde yaygındır. Hindistan'da, Mandal ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ishalleri beş yaş altı 633 çocukta en az yaygın DEC patotipleri arasında EHEC (%2.6) bildirmiştir (11). Tobias ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, İsveç'te beş yaş altı 307 ishalleri hastada en az EHEC patotipi (%1.5) tespit etmişlerdir (14). Türkiye'de, Gaziantep'te beş yaş altı akut ishalleri

91 çocukta ve 60 sağlıklı kişide EHEC tespit edilmemiştir (21). Türkiye’de, Erdoğan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 1815 hastada, Taş ve Ardic tarafından yapılan bir çalışmada, 200 hastanın 2 (%1.0)’sinde, Aydoğan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise 100 hastanın 3 (%3)’ünde EHEC serotipini saptamamışlardır (22-24). Bizim çalışmamızda, akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda DEC patotipleri arasında EHEC %10 oranında bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları yurt dışında yapılan çalışmalarla benzerlik göstermekle birlikte ülkemizde yapılan çalışmalardan daha yüksektir. Bunun nedeninin ülkemizde uzun süredir bu konuda çalışma yapılmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Shiga toksini üreten *E. coli*, beş yaş altı çocuklarda dünya çapında en yüksek hemolitik üremik sendrom insidansına sahiptir ve gelişmekte olan ülkelerde yaygındır. İskoçya’da, et veya süt ürünleri veya çevresel kontaminasyonla ilişkili STEC patotip salgınlarının yaklaşık %40’ı gıda kaynaklı, %54’ü çevresel temas ve %6’sı her iki bulaşma yolu ile gösterilmiştir (25). İran’da STEC en sık görülen patotip olmuştur (%35.4). Enterotoksijenik *E. coli* (%14.0) ve EPEC (%13.1) sırasıyla ikinci ve üçüncü en sık görülen patotiplerdir (26). Bozçal ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye’de 102 ishalleri hastada STEC patotipi en yaygın (%3.42) olarak bulunmuştur (16). Bizim çalışmamızda ise akut ishalleri beş yaş altı çocuklarda DEC patotipleri arasında en az STEC (%0.6) patotipi saptanmıştır. Bölgemizdeki ishallerde STEC patotipinin prevalansının düşük olduğu belirlenmiştir.

Enterotoksijenik *E. coli* prevalansı, yüksek morbidite oranları ile gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle iki yaş altı çocuklarda bakteriyel ishalin en önemli nedenidir (1). Zhou ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Çin’de akut ishalleri olan beş yaş altı 684 hastada ETEC’in üçüncü sırada (%14.8) yer aldığını bildirmiştir (4). İsveç’te beş yaş altı ishalleri hastalarda düşük oranda (%1.5) ETEC tespit edilmiştir (14). Burkina Faso’da akut ishalleri beş yaş altı 315 çocukta düşük oranda (%3.2) ETEC tespit edilmiştir (6). Kenya’da çocuk örneklerinde yüksek fenotipik sıklığa sahip EAEC (%12) görülmüş, bunu sırasıyla ETEC (%5.3) ve EPEC (%3.3) izlemiş, en düşük sıklık ise karışık enfeksiyonlar olan enteroagregatif/enterotoksijenik *E. coli* ve enteroagregatif/enteropatojenik *E. coli* (%1.3) olmuştur (27). Bizim çalışmamızda ETEC beş yaş altı akut ishalleri çocuklarda %1.3 oranında bulunmuştur ve diğer çalışmalara göre daha düşük bir orandır. Bunun nedeni ETEC’in daha çok seyahatle ilişkili bir ishal etkeni olmasına bağlanmıştır.

Bu çalışma, Türkiye’de ishal yapıcı *E. coli* patotiplerinin tamamını araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı tek merkezli olmasıdır, bu nedenle patotiplerin Türkiye’de yaygın olup olmadığı konusunda çok merkezli çalışmalar yapılmalıdır. Hastane ve toplum kaynaklı DEC enfeksiyonları yıllık surveyans çalışmaları ile düzenli olarak izlenmeli, gerekli önlemler alınmalı ve tedavi protokolleri bu sonuçlara göre düzenlenmelidir. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında

DEC’in saptanması için multipleks PZR sisteminin rutin olarak kullanılması önemli bir tanı aracı olacaktır. Maliyet, gelişmekte olan ülkeler için önemli bir kısıt oluştursa da, ishal vakalarının doğru şekilde teşhis edilmesini ve hedeflenmesini sağlayacaktır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için T.C. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Karar no: 2018/18, Tarih: 26.09.2018).

Hakem Değerlendirmesi: Dışarıdan hakem değerlendirmesi yapılmıştır.

Yazar Katkıları: Fikir - Tüm yazarlar; Tasarım - Tüm yazarlar; Denetleme - HTD; Kaynaklar - SM, HTD; Veri toplanması ve/veya işlemesi - AK, HTD; Analiz ve/veya yorumlama - Tüm yazarlar; Literatür taraması - AK, HTD; Yazıyı yazan - Tüm yazarlar; Eleştirel inceleme - Tüm yazarlar.

Çıkar Çatışması: Tüm yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Finansal Destek: Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: 18202057).

Kaynaklar

1. Nemeth V, Pfliegerhaa N. Diarrhea. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; November 21, 2022.
2. Lee TA, Chen CY, Chang YJ, Guo BC, Lin WY, Wu CH, et al. Presentations of children with suspected sepsis caused by acute infectious diarrhea in the pediatric emergency department. *Children (Basel)* 2024;29;11(2):171. <https://doi.org/10.3390/children11020171>
3. Maçın S, Kaya F, Çağdaş D, Hizarcıoglu Gulsen H, Saltık Temizel İN, Tezcan I, et al. Detection of parasites in children with chronic diarrhea. *Ped Int* 2016;58(6):531-3. <https://doi.org/10.1111/ped.12959>
4. Zhou Y, Zhu X, Hou H, Lu Y, Yu J, Mao L, et al. Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among children under 5 years of age with acute diarrhea: A hospital based study. *BMC Infect Dis* 2018;18:63. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2936-1>
5. Potgieter N, Heine L, Ngandu JPK, Ledwaba SE, Zitha T, Mudau LS, et al. High burden of co-infection with multiple enteric pathogens in children suffering with diarrhoea from rural and peri-urban communities in South Africa. *Pathogens* 2023;12(2):315. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020315>
6. Konaté A, Dembélé R, Kagambèga A, Soulama I, Kaboré W, Sampo E, et al. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* in children less than 5 years of age with diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. *Eur J Microbiol Immunol* 2017;7:220-8. <https://doi.org/10.1556/1886.2017.00011>
7. Canizalez-Roman A, Flores-Villaseñor HM, Gonzalez-Nuñez E, Gonzalez-Nuñez E, Velazquez-Roman J, Vidal J, et al. Surveillance of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrhea cases from children, adults and elderly at Northwest of Mexico. *Front Microbiol* 2016;30:1924. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01924>
8. Kaur P, Dudeja PK. Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli*-induced diarrhea. *Newborn (Clarksville)* 2023;2(1):102-13. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-11002-0056>

9. Muni S, Dey S, Nandan K, Biswas PP, Sen A. A bacteriological study among patients below five years of age suffering from diarrhoea and gastroenteritis with special reference to the responsible serotypes of *Escherichia coli* at a tertiary healthcare hospital in Eastern Bihar. *J Evol Med Dent Sci* 2014;3:12592-601. <https://doi.org/10.14260/jemds/2014/3668>
10. Patzi-Vargas S, Zaidi MB, Perez-Martinez I, León-Cen M, Michel-Ayala A, Chaussabel D, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* carrying supplementary virulence genes are an important cause of moderate to severe diarrhoeal disease in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9:3. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003510>
11. Mandal A, Sengupta A, Kumar A, Singh U, Jaiswal A, Das P, et al. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* pathotypes in diarrheal children from low socioeconomic status communities in Bihar, India: Emergence of the CTX-M type. *Infect Dis Res Treat* 2017;10:1178633617739018. <https://doi.org/10.1177/1178633617739018>
12. Singh T, Das S, Ramachandran V, Dar SA, Sneha K, Saha R, et al. Spectrum of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in paediatric population suffering from diarrhoea and as commensals in healthy children. *Indian J Med Microbiol* 2017;35:204. https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_16_21
13. Ochoa TJ, Rivera FP, Bernal M, Meza R, Ecker L, Gil A, et al. Detection of the CS20 colonization factor antigen in diffuse-adhering *Escherichia coli* strains. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;60:186-9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00730.x>
14. Tobias J, Kassem E, Rubinstein U, Bialik A, Vutukuru SR, Navaro A, et al. Involvement of main diarrheagenic *Escherichia coli*, with emphasis on enteroaggregative *E. coli*, in severe non-epidemic pediatric diarrhea in a high-income country. *BMC Infect Dis* 2015;15:79. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0804-4>
15. Wang X, Wang J, Sun H, Xia S, Duan R, Liang J, et al. Etiology of childhood infectious diarrhea in a developed region of China: Compared to childhood diarrhea in a developing region and adult diarrhea in a developed region. *PLoS One* 2015;10(11):e0142136. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142136>
16. Bozcal E, Yiğittürk G, Uzel A, Aydemir SŞ. Investigation of enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* associated with hemolytic uremic syndrome in İzmir Province, Turkey. *Turk J Med Sci* 2016;46:733-41. <https://doi.org/10.3906/sag-1501-60>
17. Hernandez RT, Elias WP, Vieira MA, Gomes TAJFml. An overview of atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 2009;297:137-49. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01664.x>
18. Cohen MB, Nataro JP, Bernstein DI, Hawkins J, Roberts N, Staat MA. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in acute childhood enteritis: a prospective controlled study. *J Pediatr* 2005;146:54-61. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2004.08.059>
19. O'Ryan M, Prado V, Pickering LK. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;125-36. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2005.12.008>
20. Tutak GA, Tuğrul HM. Investigation of pathogenic *Escherichia coli* origins in patients with diarrhea. *Microbiol Bul* 2015;49:124-9. <https://doi.org/10.5578/mb.8822>
21. Ekşi F, Karslığil T, Bayram A. Investigation of *Escherichia coli* O157:H7 in childhood age group diarrhea. *Van Med J* 2007;14:15-8.
22. Erdoğan H, Levent B, Erdoğan A, Güleşen R, Arslan H. Investigation of verotoxigenic *Escherichia coli* O157: H7 incidence in gastroenteritis patients. *Mikrobiyol Bul* 2011;45:519-25.
23. Taş E, Ardiç N. Frequency of thermophilic campylobacter, *Escherichia coli* O157: H7 and rotavirus in patients with acute gastroenteritis. *Klinik J* 2004;17:186-90.
24. Aydoğan S, Sünbül M, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Esen Ş. Frequency of *Escherichia coli* O157 and aeromonas species in patients with acute diarrhea. *Microbiol Bul* 2001;35:525-30.
25. Strachan NJ, Dunn GM, Locking ME, Reid TM, Ogden ID. *Escherichia coli* O157: Burger bug or environmental pathogen. *Int J Food Microbiol* 2006;112:129-37. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.021>
26. Eybpoosh S, Mostaan S, Gouya MM, Masoumi-Asl H, Owlia P, Eshrati B, et al. Frequency of five *Escherichia coli* pathotypes in Iranian adults and children with acute diarrhea. *PLoS One* 2021;16:e0245470. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245470>
27. Yeda R, Makallawa G, Apondi E, Sati B, Riziki L, Ouma C, et al. Comparative prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* between children below five years with close contact to food animals in Kisumu County, Kenya. *Pan Afr Med J* 2024;47:25. <https://doi.org/10.11604/pamj.2024.47.25.41197>