

Sucul Ekosistemlerde ve Su Ürünlerinde *Clostridioides difficile* Riski: Tek Sağlık Yaklaşımı

Risk of Clostridioides difficile in Aquatic Ecosystems and Aquaculture: One Health Approach

Melike Nur Tosun Demir*^{ORCID}, Gizem Taylan Yalçın*^{ORCID}, Nükhet Nilüfer Demirel Zorba*^{ORCID}

* Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Çanakkale, Türkiye

Atf/Cite as: Tosun Demir MN, Taylan Yalçın G, Demirel Zorba NN. Sucul ekosistemlerde ve su ürünlerinde *Clostridioides difficile* riski: Tek sağlık yaklaşımı. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2025;55(1):1-17.

Öz

Hastane kaynaklı bir patojen olarak bilinen, Gram (+), zorunlu anaerob ve sporlu bir bakteri olan *Clostridioides difficile* ile ilişkili enfeksiyonlarda, toplum kaynaklı enfeksiyonlar giderek artış göstermektedir. Bu durum, söz konusu etkenin diğer bulaşma kaynaklarının da önemsenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Artan nüfus, değişen iklim koşulları, yükselen deniz suyu sıcaklıkları, mülaj oluşumu, su kaynaklarına karışan sel suları ve kanalizasyon atıkları sucul ekosistemlerin *C. difficile* ile kirlenme olasılığını artırmaktadır. Kirlenmiş su ortamlarında bulunan su ürünleri, doğal olarak mikrobiyal kontaminasyon riski altındadır ve bu durum, halk sağlığı için büyük önem taşımaktadır. Günümüzde, *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonlarla mücadele, büyük ölçüde etkenin tanısı ve tedavisine odaklanmıştır. Tek Sağlık yaklaşımı altında etkili bir multidisipliner yaklaşım benimsemek, enfeksiyonların yönetiminde kalıcı ve çözüm odaklı adımlar atılmasını kolaylaştıracaktır. Bu derlemede, sucul ekosistemlerde ve su ürünlerinde *C. difficile* varlığı kapsamlı bir şekilde ele alınmış ve enfeksiyonların kontrolünde çevresel kaynakların önemine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır. Böylece Tek Sağlık yaklaşımı benimsenerek, *C. difficile* enfeksiyonlarının kontrolünde etkili ve kalıcı çözümlerin geliştirilmesine katkıda bulunulması hedeflenmiştir. Ayrıca *C. difficile*'nin su ürünlerinden izolasyonunda kullanılan yöntemler derlenmiş ve *C. difficile*'nin gıdalardan izolasyonunda gelecekteki araştırmacılar için önerilerde bulunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Clostridioides difficile*, su ürünleri, sucul ekosistem, tek sağlık yaklaşımı

ABSTRACT

The increasing trend of community-acquired infections associated with *C. difficile*, a Gram (+), obligate anaerobe, and spore-forming bacterium known as a nosocomial agent, indicates the importance of considering other contamination sources of this pathogen. The growing population, changing climate conditions, rising sea temperatures, mucilage formation, flood content mixing with drinking water resources and sewage discharge increase the likelihood of *C. difficile* contamination in aquatic ecosystems. Seafood in these contaminated water environments is naturally at risk of microbial contamination, posing a significant public health concern. Currently, efforts to combat *C. difficile* infections are largely focused on diagnosis and treatment. However, adopting an effective multidisciplinary approach under the One Health perspective will facilitate the implementation of sustainable and solution-oriented measures in infection management. This review comprehensively examines the presence of *C. difficile* in aquatic ecosystems and seafood, emphasizing the importance of environmental sources in controlling infections. Thus, by adopting the One Health approach, it aims to contribute to the development of effective and sustainable solutions for controlling *C. difficile* infections. Additionally, methods used for isolating *C. difficile* from seafood are reviewed, and recommendations for future researchers on isolating *C. difficile* from food are provided.

Keywords: *Clostridioides difficile*, seafood, aquatic ecosystem, one-health approach

Alındığı tarih / Received:

25.06.2024 / 25.June.2024

Kabul tarihi / Accepted:

08.11.2024 / 08.November.2024

Yayın tarihi / Publication date:

24.03.2025 / 24.March.2025

ORCID Kayıtları

M. N. Tosun Demir 0000-0002-6451-7354

G. Taylan Yalçın 0000-0003-2146-8254

N. N. Demirel Zorba 0000-0001-6851-6474

✉ dnuhket@comu.edu.tr

GİRİŞ

Clostridioides difficile, Gram (+), basil, zorunlu anaerob, toksin üreten, sporlu ve antibiyotik ile ilişkili ishale sebep olan bir bakteridir. Genellikle, antibiyotik kullanımının normal bağırsak mikrobiyotasını bozmasından sonra, insan bağırsak sisteminde kolonize olmaktadır. Bakteri kolonize olduktan sonra kalın bağırsağın epitel hücrelerine bağlanan ekzotoksinler üretmekte, toksinler hücre yapısını bozarak, sıvı kaybına ve ishal ve kolit ile sonuçlanan inflamatuvar bir yanıt oluşumuna neden olmaktadır. Bu yanıt hafif bir fokal kolit vakasından şiddetli sepsis, toksik megakolon, çoklu organ disfonksiyonu ve ölüme kadar değişkenlik göstermektedir⁽¹⁾. *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonlar için risk faktörleri arasında antibiyotik kullanımı, ileri yaş ve hastane veya sağlık hizmetleri veren ortamlarda kalmanın yer aldığı belirtilmektedir. Ayrıca, yetersiz el hijyenine sahip olan sağlık çalışanları *C. difficile* taşınmasında rol oynayabilmektedir⁽²⁾. Toksinojenik *C. difficile*'nin ellerde olduğu gibi hastane yüzeylerinde de kolonize olduğu bildirilmiştir⁽³⁾. *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonlarda hastaneler yüksek riskli ortamlar olarak kabul edilmektedir. Ancak son yıllarda, gençler, çocuklar, hastanede yatış yapmamış, antimikrobiyallere maruz kalmamış veya kronik hastalıkları olmayan bireylerde *C. difficile* enfeksiyonları daha fazla bildirilmeye başlamıştır⁽⁴⁾. Toplum kaynaklı *C. difficile* enfeksiyonlarının artan oranları, daha fazla toksin A ve B üretebilen ve bu nedenle belirgin risk faktörleri olmayan bireyleri de etkileyebilen PCR ribotip 027 veya 078 gibi hipervirülen suşların ortaya çıkması ve yayılması ile ilişkilendirilmiştir⁽⁴⁾. *C. difficile* epidemiyolojisi değişmeye devam ettikçe, bu patojenin çeşitli suşlarının nasıl geliştiğine, yayıldığına ve *C. difficile* enfeksiyonları (CDI)'na neden olan *C. difficile* suşlarının değişen yaygınlığına ek olarak, bulaşma kaynaklarındaki değişiminde dikkate alınması gerektiği ifade edilmektedir⁽⁵⁾. Sheth ve ark.⁽⁶⁾ ile Halstead ve ark.⁽⁷⁾ yaptıkları çalışmalarda hastaneye kabul edilen asemptomatik hastaları araştırmış ve elde edilen *C. difficile* izolatlarını, semptomatik CDI hastalarından alınan izolatlarla karşılaştırmıştır. Sonuçlar, test edilen popülasyonun %10-15'inin asemptomatik taşıyıcı olduğunu ve bunların %80'inden fazlasının toksinojenik

suşlarla kolonize olduğunu ortaya koymuştur. Lim ve ark.⁽⁸⁾ bu çalışmaların gerçek hastane kaynaklı vakaları içermediğini ve *C. difficile*'in toplumdan edinildiğini, hastalığın ise sadece hastaneye kabul edildikten sonra ortaya çıktığını gösterdiğini ifade etmiştir. Ayrıca asemptomatik taşıyıcılar aracılığıyla *C. difficile* suşlarının sürekli olarak hastane ortamına getirilmesiyle, toplum kaynaklarının/rezervuarlarının CDI bulaşmasında önceden düşünülen çok daha büyük bir rol oynadığı ve mevcut sınıflandırma yönergeleri altında toplum kaynaklı CDI insidansının büyük ölçüde hafife alındığını bildirmişlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü, gıda kaynaklı bir hastalığı "gıdanın yutulması yoluyla vücuda giren ajanların sebep olduğu, doğası gereği toksik veya genellikle de bulaşıcı" bir hastalık şeklinde tanımlamaktadır⁽⁹⁾. Bir hastanın *C. difficile*'yi direkt olarak gıdalardan alıp almadığını belirlemek için herhangi bir epidemiyolojik kılavuz olmadığından, bir *C. difficile* enfeksiyonu vakasının gıda kaynaklı olup olmadığını şu an için belirlemek kolay değildir. Ayrıca pek çok gıda kaynaklı hastalıkta, kontamine olmuş gıdanın tüketilmesinden semptomların ortaya çıkmasına kadar nispeten kısa bir süre vardır. Öte yandan, *C. difficile* daha sonraki bir tarihte kolonizasyon fırsatı ortaya çıkana kadar hastalığa neden olmayabilir. Ayrıca, bir bireyin asemptomatik olarak *C. difficile* ile kolonize olması ve ardından bakteriyi başka bir bireye geçirmesi ve semptomatik hastalık ile sonuçlanması da mümkündür. Bunun yanında *C. difficile* kolonizasyonunun fırsatçı doğası ve hastalığın ortaya çıkması için hem bakteriye maruz kalma hem de bağırsak mikrobiyotasının bozulmasına duyulan ihtiyaç, asemptomatik bir durumun öneminin belirlenmesinde zorluklar yaratmaktadır⁽¹⁰⁾. Bu sebepler ile gıdayı epidemiyolojik olarak CDI ile ilişkilendirmek oldukça zordur. Ancak gıdasından yararlanılan hayvanlardan⁽¹¹⁾, evcil hayvanlardan⁽¹²⁾, su⁽¹³⁾, toprak⁽¹⁴⁾, ve gübre⁽¹⁵⁾ gibi çevresel kaynaklardan, et⁽¹⁶⁾, tavuk eti⁽¹⁷⁾, su ürünleri⁽¹⁸⁾ ve sebzeler⁽¹⁹⁾ olmak üzere çeşitli gıda matrislerinden *C. difficile* izole edilmiştir. Risk faktörlerini taşımayan insanlarda da *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonların görülmesi, CDI'nda hastane dışı kaynakların rolünün düşünülmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Bu bulgu, araştırma yapılan nişlerde karşılaşılan seçim baskıları sonrasında, bu bakteride ortaya çıkan ve hem klinik

hem de veterinerlik ortamlarında antimikrobiyal kullanımındaki artışa bağlı olarak ortaya çıkan adaptasyonları yansıtabilir. *C. difficile* yeni ekolojik ortamlara uyum sağlamaya devam ettikçe bu cinsin taksonomisi de gelişmektedir⁽²⁰⁾.

Atmosfer ve deniz suyu sıcaklıklarının yükselmesi, azalan kar ve buz miktarları ile yükselen deniz seviyeleri, ekstrem hava olaylarının sıklığının artması gibi iklim değişikliği sonuçlarının, gıda ve su kaynaklı enfeksiyonlarda küresel bir artışa neden olduğu belirtilmiştir⁽²¹⁾. Sıcaklık artışı, artan yağış ve sel olayları bakteriyel gastrointestinal enfeksiyonların yaygınlığını artırdığı ifade edilmektedir^(22,23). Lin ve ark.⁽²⁴⁾, iklim değişikliği nedeniyle sel olaylarının artmasının, *C. difficile* enfeksiyonlarında potansiyel bir artışa yol açabileceğini belirtmiştir. İklim değişikliği, gıdaların ve bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere neden olabilir. Bağırsaktaki azalan biyoçeşitlilik, gastrointestinal hastalıkların görülme sıklığını ve şeklini etkileyebilmektedir⁽²³⁾. Küresel iklim değişikliğinin *C. difficile* enfeksiyonları üzerindeki etkisi, çeşitli faktörlerin birleşimiyle ortaya çıkmaktadır. İklim değişikliği sonucu artan yağış ve sel olayları, *C. difficile*'nin yayılma ve bulaşma riskini artıran önemli etmenlerdendir. Seller, *C. difficile* sporlarını ve potansiyel enfeksiyon kaynaklarını taşıyabilir ve bu da etkenin daha geniş alanlarda yayılmasına neden olabilir. Ayrıca, iklim değişikliğine bağlı olarak bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, CNI için bilinen bir risk faktörüdür. Dolayısıyla küresel iklim değişikliği hem çevresel hem de mikrobiyal dinamikleri değiştirerek CNI için uygun bir zemin oluşturabilir.

Daha önce yalnızca hayvanlarda görülen suşların neden olduğu insan enfeksiyonlarının ortaya çıkması, CNI'nin zoonotik olabileceğine dair kanıtlara katkıda bulunmaktadır⁽¹⁰⁾. Ancak, bu suşların genomik bilgileri, tek başına salgınları veya bulaşma zincirlerini açıklamak için yeterli değildir. Bu veriler salgınları tespit etmek ve çevresel, gıda ve klinik ortamlardan rezervuarları belirlemek için epidemiyolojik ve istatistiksel analizlerle desteklenmelidir⁽²⁵⁾. İnsan sağlığının, hayvanların ve çevrenin sağlığıyla bağlantılı olduğunu kabul eden bir girişim olan tek sağlık yaklaşımı, *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonların yönetimi için, doktorlar, veterinerler ve tarım

uzmanları arasındaki iletişim seviyesini artırmaktır⁽⁸⁾. *C. difficile*'nin her ortamdan izole edilmesi tek sağlık yaklaşımını halk sağlığı planlaması açısından hayati kılmakta ve hastalığı kontrol etme, önleme ve tedavi etme girişimlerinde bir sağlık sorununa katkıda bulunan tüm faktörlerin gözden geçirilmesi ihtiyacını vurgulamaktadır⁽¹⁰⁾. Tek Sağlık yaklaşımı, CNI'nin kontrolünde insan, hayvan ve çevre sağlığını bir bütün olarak ele alarak daha entegre ve etkili çözümler sunmaktadır. Sucul ekosistemlerde *C. difficile* kontaminasyonunu ve iklim değişikliği etkilerini izlemek çevre sağlığı için, su ürünleri yetiştiriciliğinde hijyen standartlarını artırmak hayvan sağlığı açısından önemlidir. Gıda güvenliği uygulamaları ve halk sağlığı eğitimi ise insan sağlığını korumada önemli rol oynamaktadır. Sürekli izleme, biyogüvenlik önlemleri, kapsamlı araştırmalar ve güncellenmiş politika ve yönetmelikler, Tek Sağlık yaklaşımının etkinliğini artırarak *C. difficile*'nin yayılmasını önleyebilir ve sürdürülebilir halk sağlığı stratejilerini geliştirebilir.

Bu derlemede su ürünlerinde *C. difficile* varlığı, sucul ekosistemlerde *C. difficile* kontaminasyonunu artıracak faktörler ile birlikte tartışılmış ve Tek Sağlık yaklaşımıyla CNI ile mücadelede çevresel bir kaynak olarak su ürünlerindeki *C. difficile* varlığına dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Clostridioides difficile

Clostridioides (*Clostridium*) *difficile*, taksonomik olarak Eubacteriales takımına, *Peptostreptococcaceae* familyasına ve *Clostridioides* cinsine aittir⁽²⁶⁾. İlk kez 1935 yılında sağlıklı bebeklerin bağırsak florasından izole edilmiştir⁽²⁷⁾. Tanımlandığı ilk dönemlerde izolasyonunda yaşanan zorluklar sebebi ile *Bacillus difficilis* olarak adlandırılmış ve 40 yıl sonra *Clostridium difficile* olarak yeniden adlandırılarak psödomembranoz kolitin nedeni olarak tanımlanmıştır⁽²⁸⁾. Lawson ve Rainey'nin 2015 yılındaki önerisi doğrultusunda, *Clostridium* cinsinin *C. butyricum* ve benzeri türlerle sınırlanması, bu bakterinin filogenetik olarak rRNA Clostridial Kümesi I'den uzakta olduğunu ve Küme XI'de yer aldığını göstermiştir. Ancak, bu monofiletik gruptan ayrılan *C. difficile*, belirsizliklere neden olmaktadır⁽²⁹⁾. Bu

nedenle yapılan fenotipik, kemotaksonomik ve filogenetik analizler sonucunda⁽²⁹⁾ 2016 yılında ikinci bir yeniden sınıflandırmaya dahil edilerek *Clostridioides difficile* olarak adlandırılmıştır⁽³⁰⁾. Ancak günümüzde *C. difficile* için her iki isimlendirmenin de kullanılabilmesi ifade edilmiştir^(31,32).

Clostridioides difficile zorunlu anaerob, spor oluşturan, Gram (+), basil bir bakteridir⁽³³⁾. Tipik kolonileri kan içeren besiyerlerinde yuvarlak, düz, kirli beyazdır ve buzlu cam görünümüne sahiptir⁽³⁴⁾. Diğer mikroorganizmalar ile rekabetine de büyük katkı sağlayan ve yüksek düzeyde bakteriyostatik bir bileşik olan ve spesifik at gübresi kokusuna sebep olan *p*-cresol sentezleyebildiği ve tolere edebildiği bildirilmiştir⁽³⁵⁾. Çevresel kaynaklarda, insan ve hayvan dışısında toksinojenik ve toksinojenik olmayan formda yaygın olarak normal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olarak bulunabilen bu bakteri fekal-oral yol ile taşınmaktadır⁽²⁷⁾.

Nozokomiyal ishalin en yaygın nedeni olan bu bakterinin görülme sıklığının, 2000 yılında hipervirulent bir suşun ortaya çıkmasından bu yana, giderek artış gösterdiği bildirilmektedir⁽²⁸⁾. CNI'nun tanısı ve tedavisi; sınırlı tedavi seçenekleri, yaygın eşlik eden hastalıklar gibi nedenlerde oldukça zordur ve sıklıkla tekrarlayan enfeksiyonlar şeklinde görülmektedir⁽³⁶⁾.

***Clostridioides difficile* patojenitesi**

Gastrointestinal sistem, karmaşık bir ekosistemdir. *C. difficile*, sağlıklı kişilerin yaklaşık %1 ila %15'inde bağırsakları kolonize etmektedir. Yeni doğanlarda ise bu oran %80'e kadar çıkabilmektedir ancak nadiren enfeksiyona neden olmaktadır⁽³⁷⁾. Bu patojen mikrobiyotanın bozulmasından sonra insan bağırsağında gelişmekte ve gastrointestinal sorunlara yol açabilmektedir⁽³⁸⁾. CDI'nın sağlık sistemleri için büyük bir yük oluşturduğu ve hastanelerde salgınlara neden olduğu ifade edilmiştir⁽³⁹⁾.

Hipervirulent RT027 *C. difficile* suşunun florokinolon direnci kazanması ile birlikte Avrupa'da farklı ülkelerde⁽⁴⁰⁾ ve Kuzey Amerika⁽⁴¹⁾'da çeşitli salgınlara

neden olduğu belirlenmiştir. Çeşitli ülkelerde *C. difficile* enfeksiyonlarının yıllara bağlı olarak yükselen insidansları bildirilmiştir⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. ABD'de yaygın olarak bulunan suşlar arasında RT027, RT106, RT014/20 ve RT002 bulunmaktadır. Hipervirulent suşlar arasında RT027'nin yanı sıra, daha düşük yaygınlık oranına sahip olan RT078 ve RT244 de mevcuttur. RT017 suşu Asya ve Afrika'daki CDI salgınlarının ana nedeni olarak ortaya çıkmaktadır. Farklı coğrafik bölgelerde görülen farklı *C. difficile* ribotip türleri, dünya genelinde ortaya çıkmaya devam ederek CDI'yu küresel bir sorun haline getirmektedir^(45,46).

Clostridioides difficile enfeksiyonlarının patogeneziindeki ilk adımlardan biri olan kolonizasyon, *C. difficile* sporlarının alınmasıyla başlar ve genellikle antibiyotik tedavisi sırasında meydana gelir. Sporlar, midenin asidik ortamına dayanabilmekte ve kolona geçebilmektedir. Doğal bağırsak mikrobiyotasının antibiyotik gibi nedenlerle rekabet gücünün azalmasıyla, sporlar kolonda vejetatif hücrelere dönüşmektedir. Ardından, *C. difficile*, enterotoksin A (TcdA) ve sitotoksin B (TcdB) olarak bilinen birincil toksinleri salgılar. Bu toksinler, bağırsak hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak hücre fonksiyonunu bozmakta ve inflamatuvar yanıt ile ishali tetiklemektedir⁽³⁸⁾.

Fırsatçı bir patojen olan *C. difficile*'nin patojenitesi ve salgın potansiyeli, virülans faktörlerine ve antibiyotik direncine dayanmaktadır⁽⁴⁷⁾. *C. difficile*'nin temel virülans faktörleri, vejetatif hücreleri tarafından salgılanan toksinlerdir. Ayrıca, adhesinler, ekstrasellüler enzimler, flagella, kapsül ve parakristal S katmanı gibi diğer faktörler de virülansa katkıda bulunmaktadır⁽⁴⁸⁾.

Clostridioides difficile'nin virülansı, başlıca iki ana toksinin (TcdA ve TcdB) üretimi ile ilişkilidir⁽⁴⁹⁾. Toksin A ve Toksin B, %47 oranında aynı yapıya sahiptir. Bu toksinlerin her biri, farklı işlevleri olan dört ana bölgeden oluşur: glikosiltransferaz (A alanı), reseptör bağlanma (B alanı), sistein proteaz (C alanı) ve dağıtım (D alanı)⁽²⁶⁾. Her iki toksin de bakteri genomundaki patojenite lokusu (*PaLoc*) adı verilen bölgede kodlanmaktadır. Toksinojenik olmayan suşlar ise, *PaLoc* lokusuna sahip değildirler ancak konjugasyon yoluyla kazanabilirler⁽²⁶⁾.

Toksin A ve Toksin B, glukoziltransferaz yapısındadır ve Rho ve Rac ailesinin küçük GTPazlarını glikozilasyon yoluyla modifiye ederek etkisiz hale getirir. Bu, Rho'ya bağlı sinyal oluşumunu engellemektedir. Rho proteinlerinin inaktivasyonu, hücre iskeletinin yeniden yapılandırılması, inflamasyon aktivasyonu, hücre döngüsünün inhibisyonu, apoptoz veya nekroz gibi çeşitli hücresel sorunlara yol açmaktadır^(33,50,51).

TcdA ve TcdB'nin yanı sıra, *C. difficile*'nin bazı suşları, CDT lokusunda (*CdtLoc*) bulunan *cdtA* ve *cdtB* adlı iki gen tarafından kodlanan binary toksin (CDT) adlı üçüncü bir toksin üretmektedir^(52,53). Binary toksin iki ayrı protein bileşiminden oluşan bir toksindir ve bazı suşların virülansına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Binary toksinin, TcdA ve TcdB'nin toksisitesini artırabildiği ve hastalığın daha şiddetli seyretmesine yol açabildiği belirtilmektedir. Bu nedenle, ek bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir⁽⁵⁴⁾.

Clostridioides difficile enfeksiyonu genellikle toksinlerle ilişkilendirilse de, endosporlar da önemli bir virülans faktörüdür ve patojenin varlığını sürdürmesi ve enfeksiyonun tekrar etmesinden sorumlu tutulmaktadır⁽⁵⁵⁾. Zorunlu bir anaerob olarak, *C. difficile*'nin hayatta kalması ve yayılması, çok katmanlı bir dış yapısı olan sporlarına bağlıdır⁽⁵⁶⁾. *C. difficile*'nin bulaşması spor formunda fekal-oral yolla olmakta ve sporların vejetatif hücrelere dönüşmesi son aşamada duodenumda gerçekleşmektedir. Daha sonra bakteriler kolona ulaşır burada bir veya birkaç toksin kombinasyonu üreterek enfeksiyona neden olmaktadır⁽⁵⁷⁾. Sporlar çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunmakta ve insanlar ile hayvanların dışkılarıyla yayılabilmektedir⁽⁵⁸⁾.

Clostridioides difficile sporları, düşük su aktivitesine⁽⁵⁹⁾, kimyasallara⁽⁶⁰⁾, düşük ve yüksek sıcaklıklara^(61,62) karşı son derece dirençlidir. Bu direnç özellikleri ile birlikte sporlar kontamine oldukları bir ortamda birkaç haftadan birkaç aya kadar varlıklarını sürdürebilmektedir⁽⁶³⁻⁶⁵⁾.

Flagella oluşumu, birçok bakteriye hareket etme, yüzeylerde kolonize olma, büyümeyi ve hayatta kalmayı optimize etme gibi avantajlar

sağlamaktadır⁽⁶⁶⁾. Hareketliliği ve yapışmayı kontrol eden genlerin düzenlenmesi, *C. difficile*'nin kolonizasyonunu ve virülansını artırmaktadır⁽⁶⁷⁾. Flagellum biyosentezinin toksin üretimi, sporülasyon, adezyon ve metabolizma gibi çeşitli hücresel süreçlerle bağlantılı olduğu bildirilmektedir⁽⁵⁷⁾.

C. difficile yeni tanımlanan bir S katmanına sahiptir. Bu katman, birçok bakteride ve hemen hemen tüm arkelerde bulunan, lizozim direnci ve bakteriyofaj yapışması gibi çeşitli aktivitelerle ilişkili bir yapıdır. S katmanı, patojen-konak etkileşimlerinde kritik bir rol oynamaktadır ve patogenezi desteklemektedir. S katmanı proteinlerinin *C. difficile*'nin hücre hatlarına tutunmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir⁽⁶⁸⁾.

Clostridioides difficile enfeksiyonlarında suş virülansı ve konak tepkisi kritik faktörlerdir. Bağırsak mikrobiyotasının besin nişlerini işgal etme ve besin kullanımını kısıtlama yeteneği, *C. difficile* kolonizasyonunu önlemede önemli bir rol oynamaktadır. Araştırmalar, *C. difficile*'nin ihtiyaç duyduğu ekolojik nişler başka mikroorganizmalar tarafından işgal edildiğinde, patojenin rekabet edemediğini ve kolonize olamadığını göstermektedir^(36,69). *C. difficile*'nin bağırsak mukozasına tutunmasının yanında, abiyotik yüzeylerde tutunması ve biyofilm oluşturabilmesi de patojenitesinde rol oynamaktadır⁽⁷⁰⁾.

***Clostridioides difficile* antibiyotik direnci**

Bakterilerde antibiyotik direnci, çoğalma sırasında dikey yönde (ana hücreden yeni hücrelere) genetik ve fizyolojik özellik olarak aktarılmasının yanı sıra, bakterilerin türler ve/veya cinsler arasında yatay olarak genetik materyal alışverişi yapma eğilimi nedeniyle meydana gelebilmektedir.

Clostridioides difficile ile ilişkili hastalıklarda olağan tedavinin antibiyotik kullanılması olması yanında, antibiyotik maruziyeti risk faktörlerinden biridir⁽⁷²⁾. Antibiyotik direnci *C. difficile* ile ilişkili hastalıkların yayılmasında önemli rol oynamaktadır⁽⁷³⁾. Antibiyotik direnç oranları coğrafi bölgelere ve yerel/ulusal antibiyotik kullanım politikasına bağlı olarak

önemli ölçüde farklılık gösterse de veriler, klinik *C. difficile* izolatlarının çoğunun sefalosporinler, florokinolon, eritromisin ve klindamisine dirençli olduğunu göstermektedir⁽⁷⁴⁾. *C. difficile*'deki antibiyotik direnci çok faktörlü bir yapıya sahiptir. Metabolik yollardaki varyasyonlar ve biyofilm üretimi gibi faktörlerin yanında, genetik elementlerin kazanılması ve antibiyotik hedef bölgesindeki değişiklikler, *C. difficile*'nin antibiyotik direncine katkı sağlamaktadır⁽⁷⁴⁾. Orta ve şiddetli seyreden *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyonlarda, tedavide ilk seçeneklerden biri olan vankomisin, hücre duvarının temel bileşeni olan peptidoglikan sentezini inhibe etmekte ve gastrointestinal sistem tarafından zayıf bir şekilde emilmektedir⁽⁷⁴⁾. Tedavide kullanılan bir diğer antibiyotik olan metronidazolün CDI'nın tedavisinde vankomisine kıyasla etkinliğinin azalmasının nedenleri tam olarak belirlenememiştir. Metronidazolün etki mekanizmasının da tam olarak aydınlatılamamasının yanında DNA sentezi inhibisyonu, oksidasyon yoluyla DNA hasarı, DNA bozulmasına ve hücrenin ölümüne sebep olan tek ve çift zincirli bağların kopması ile etki oluşturduğu düşünülmektedir⁽⁷⁵⁾.

Gıdalar, antimikrobiyal dirençli bakteriler ve/veya antimikrobiyal direnç genleri ile toprak, su, fekal kontaminasyon, dışkı ile kontamine olmuş sular ve kanalizasyon deşarjları gibi birçok yol ile kontamine olabilirler⁽⁷⁶⁾. Tedavide sıklıkla kullanılan metronidazol⁽⁷⁷⁾, klindamisin⁽⁷⁷⁾ ve vankomisin⁽⁷⁸⁾ antibiyotiklerine karşı direnç gösteren, gıdalardan elde edilen *C. difficile* izolatları bildirilmiştir.

Sucul ekosistemlerde *Clostridioides difficile* varlığı

Sucul ekosistemlerdeki mikrobiyal kirlilik, patojenik mikroorganizmaların su ürünlerine potansiyel kontaminasyonu nedeniyle kritik sorunlardan biridir⁽⁷⁹⁾. Bakteriyel düzeydeki kirlenme, atık suyun deniz kıyısına boşaltılmasından önemli seviyede etkilenmektedir⁽⁷⁹⁾. *C. difficile* atık su arıtma tesislerinde varlığını koruyabilmektedir ve toksinojenik *C. difficile* çevreye salınarak toplumdan edinilen *C. difficile* enfeksiyonları için potansiyel bir kaynak haline gelmektedir^(80,81). İran'da atık su arıtma tesisinde *C. difficile* varlığını belirlemek için yapılan bir çalışmada⁽⁸⁰⁾, aktif çamur arıtma tesisinden ve

atık stabilizasyon havuzundan 95 numune alınmıştır. Çamur örneklerinin %13.6'sında, atık stabilizasyon havuzundan alınan örneklerin %5'inde *C. difficile* tespit edilmiştir. Chisholm ve ark.⁽⁸¹⁾ tarafından Avustralya'da yapılan bir çalışmada ham atık suyun %90.5'inde (114/126), arıtılmış atık suyun %48.1'inde (50/104), ıslah edilen sulama suyunun %40'ında (2/5) *C. difficile* varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen izolatların yarısından fazlasının (%55.3) toksinojenik olduğu, hipervirulent RT078 suşu da dahil olmak üzere, A+ B+ CDT+ toksin gen profiline sahip izolatlar olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada elde edilen izolatların tamamının rifaksimisin, fidaksomisin, metronidazol ve amoksisilin-klavulanik aside karşı duyarlı olduğu ancak izolatlarda eritromisin, tetrasiklin ve klindamisine karşı direnç gözlemlendiği belirtilmiştir. Atık su arıtma tesisi ve göl tortusunda *C. difficile* varlığı araştırılan çalışmada⁽⁸²⁾, atık sudan iki toksinojenik olmayan izolat ve tortu örneğinden bir toksinojenik izolat elde edilmiştir. Tüm izolatların insan kaynaklı izolatlar ile yakın genomik ilişki gösterdiği belirtilmiştir.

2007 yılında Finlandiya'daki içme suyu dağıtım sistemi, toplumda büyük bir gastroenterit salgına neden olan arıtılmış atık su ile kontamine olmuştur. Yapılan araştırmada⁽⁸³⁾, musluk suyundan beş ve arıtılmış kanalizasyon atığından yedi olmak üzere 12 toksin pozitif *C. difficile* izolatı elde edilmiş ve musluk suyu dağıtım sisteminde *C. difficile* kontaminasyonu ve toksinojenik *C. difficile*'nin sular aracılığı ile bulaşmasının mümkün olduğu ifade edilmiştir.

Lin ve ark.⁽²⁴⁾ 2003-2007 yılları arasında Massachusetts'de gerçekleşen 129 sel olayı ve 1575 *C. difficile* enfeksiyonu tanısı arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir. 19-64 yaş arası hastaların *C. difficile* enfeksiyonu için acil servis ve ayakta izleme ziyaretlerinin sel olayından sonraki 7-13 gün boyunca arttığını gözlemlemişlerdir. Sel olayından sonraki 27 güne kadar CDI için sel dışında, başka risk faktörü gözlemlenemediklerini ve selden sonraki 7-13 günlük dönemin CDI açısından riskli olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca iklim değişikliği ile birlikte gelecekte daha fazla sel olayının ön görülmesiyle CDI'nda artış olabileceğini ifade etmişlerdir.

Al-Saif ve Brazier⁽⁸⁴⁾ tarafından Galler'de yapılan bir çalışmada nehir sularında %87.5, deniz suyunda %44, göl suyunda %46.7, yüzme havuzu sularında %50 ve musluk sularında %5.5 *C. difficile* tespit edilmiştir. Nehirler ve deniz suyundaki *C. difficile* kirliliğinin kaynağı olarak yüksek nüfus yoğunlukları, tarımsal drenaj, sel suları ve kanalizasyon atık çıkışlarından kaynaklanan kirlenme sorumlu tutulmaktadır⁽⁸⁵⁾. Deniz, göl, nehir gibi sucul ekosistemlere atık su ve sel suları ile *C. difficile* karışma ihtimali, bu ortamlarda bulunan su ürünlerinin, *C. difficile* ile kontamine olma olasılığını güçlendirmektedir.

Su ürünlerinde *Clostridioides difficile* varlığı

Su ürünleri kaynaklı patojenlerin çoğu, sucul ortamlarda, su ürünlerinin yüzeylerinde ve işleme sırasında su ürünleri ile temas eden yüzeylerde, üç boyutlu yapılar olan biyofilmler oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar gıdalarda biyofilm oluşturduğunda uzun süre hayatta kalabilmekte ve antimikrobiklerin çoğuna direnç gösterebilmektedirler⁽⁸⁶⁾. *C. difficile*'ye bağlı enfeksiyonların tekrarlanmasında biyofilmler önemli bir faktör olabilir. *C. difficile* DNA, polisakaritler ve proteinlerden oluşan biyofilm matrisi oluşturur. Toksinler biyofilm matrisi içinde yer alarak enfeksiyona sebep olabilirler. Ayrıca sporların da bu matris içinde yer aldığı bildirilmiştir⁽⁸⁸⁾.

Su ürünleri *Clostridium perfringens* ve *Clostridium botulinum* rezervuarı olarak Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından da vurgulanmaktadır⁽⁸⁹⁾. *C. perfringens* ve *C. botulinum* gibi diğer *Clostridium* türleri, benzer bulaşma yollarıyla *C. difficile*'nin su ürünlerine kontaminasyon riski taşıdığını gösteren iyi bilinen gıda kaynaklı patojenlerdir⁽⁹⁰⁾. Ayrıca yapılan bir meta analizde kabuklu deniz ürünleri ve domuz eti tüketiminin tüm *C. difficile* ribotiplerine maruz kalma riskini artırdığı ifade edilmiştir.

Clostridioides difficile su ürünlerine, kirlenmiş su kaynakları, uygun olmayan gübre uygulamaları, yetersiz pişirme, hijyen programlarının yetersizliği gibi bulaşma faktörleri ile bulaşabilmektedir. Su

ürünlerinde *C. difficile* varlığına dair çalışmalar Tablo 1'de verilmiştir. Taze su ürünlerinin yanında, dondurulmuş, ısıtılmış, ısıtılmamış, tütülenmiş, kurutulmuş ve konserve su ürünlerinde *C. difficile* varlığı araştırılmıştır.

Clostridioides difficile'nin patojen suşlarının insanlara bulaşmasındaki temel kaygı, genellikle çiğ ya da az pişmiş gıdalar olarak tüketilen kabuklu deniz hayvanlarının tüketilmesi ile ilgilidir⁽⁹²⁾. Ancak *C. difficile* suşları pişirme sıcaklıklarına dayanabilir ve yenilebilir çift kabuklu yumuşakçalar çoğunlukla az pişmiş veya çiğ olarak tüketilmektedirler⁽⁹³⁾. Pişmiş karideslerdeki *C. difficile* varlığı⁽⁹⁴⁾ bu endişeyi destekler niteliktedir. Balık ve kabuklu deniz ürünleri için önerilen iç pişirme sıcaklığı 145°F (62.8°C) olarak belirtilmiştir⁽⁹⁵⁾. Ancak Rodriguez-Palacios ve LeJeune⁽⁹⁶⁾ 63°C ısı uygulamasının *C. difficile* sporlarının çimlenmesini teşvik ederek, *C. difficile*'nin geri kazanımını artırdığını bildirmişlerdir. Rodriguez ve ark.⁽⁹⁷⁾ füme ve kurutulmuş balıklarda *C. difficile* tespit ettiklerini ve bu bulgunun çiğ balığın daha önceden kontamine olduğunu ve/veya kontaminasyonun işleme sırasında gerçekleştiğini gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca uygulanan ısıtmanın sporları uzaklaştırmak için yeterli olmadığını bildirmişlerdir.

Gıdaların muhafazasında yeterli pişirme sıcaklığının yanında düşük sıcaklıklarda muhafaza da bir koruma yöntemi olarak uygulanmaktadır. Deng ve ark.⁽⁶¹⁾ et ve fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisinde *C. difficile* sporlarına -80°C, -20°C, 4°C ve 23°C sıcaklıklarında saklama ve -20°C'den 23°C'ye 10 kez yapılan çözme-dondurma işlemlerinin etkilerini dört ay boyunca incelemişlerdir. Araştırmacılar uygulanan işlemlerin tamamında spor canlılığında azalma gözlemlenmişler ancak sporların önemli ölçüde canlılığını koruyabildiğini ifade etmişlerdir. Marcos ve ark.⁽⁹⁸⁾ buzdolabı sıcaklıklarında saklanan (4°C) ve dondurularak (-20°C) depolanmış tavuk göğsü, dana biftek, ıspanak yaprakları ve süzme peynirde *C. difficile* (ribotip 078 ve 126) spor canlılığını ve depolama sonrası bu gıdaların hafif pişirme (60°C, 1 saat) uygulanmasını ısıtılmayan kontrol grubu ile karşılaştırarak incelemişlerdir.

Tablo 1. Su ürünlerinde *Clostridioides difficile* varlığı

Su ürünü	Ülke	<i>Clostridioides difficile</i> tespit edilen örnek sayısı /Toplam örnek sayısı	Ribotip	Toksintip	Kaynak
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	İtalya	16/33	014/020, 018, 078, 126, SLO 038, SLO 084, SLO124, 045, 012, SLO 002, 010, 070, SLO 121, SLO 123	0, V	Pasquale ve ark. ⁽¹⁰⁵⁾
<i>Tapes philippinarum</i>		10/19	002, SLO 122, 001, 003, 012, 014/020, 078, 106, SLO 063	0, V	
<i>Venus verrucosum</i>		0/1	-	-	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	İtalya	33/912	001, 018, 106, 126, 078, 009, 010, 031, 051, 085, 100, 017, 120, 073	-	Troiano ve ark. ⁽⁹²⁾
<i>Tapes philippinarum</i>		3/13	010, 204, 100	-	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	İtalya	45/387	014, 078, 002,020, 106,651, 012, 449, 010, 009, 031/1, PR17487, 001, 005, 015, 017, 018, 046, 087, 126	-	Agnoletti ve ark. ⁽⁹⁴⁾
<i>Ruditapes philippinarum/ Chamelea gallina</i>		73/315		-	
Tütsülenmiş, kurutulmuş tatlı su balığı	Kamboçya	4/25	UCL 36	-	Rodriguez ve ark. ⁽⁹⁷⁾
<i>Cyprinus carpio</i> (Sazan balığı)		7/40	-	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşluğu alabalığı)	İran	3/40	-	-	Nayebpour ve Rahimi ⁽¹⁰⁷⁾
<i>Scomberomorus commerson</i>		0/32	-	-	
Barakuda balığı		0/32	-	-	
<i>Scomberomorus guttatus</i>		1/40	-	-	
<i>Crassostrea virginica</i>	ABD	9/19	-	-	Montazeri ve ark. ⁽¹⁰⁸⁾
Dondurulmuş deniz tarağı	-		078	V	
Taze levrek	Kanada		078	V	
Dondurulmuş karides	Vietnam	5/119	OVC0	-	Metcalf ve ark. ⁽⁹³⁾
Taze somon	Kanada		078	V	
Pişmiş karides	Kanada		078	V	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>		2/3	066, 010	V	
<i>Tapes philippinarum</i>	İtalya	1/1	010	-	Pasquale ve ark. ⁽⁸⁹⁾
<i>Callista chione</i>		1/2	005	0	
Balık ezmesi; füme, konserve ve çiğ balık	Slovenya	0/157	-	-	Tkalec ve ark. ⁽¹⁰⁹⁾
Çift kabuklu yumuşakçalar, karidesler		1/17	010	-	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	İspanya	11/123	-	-	Candel-Pérez ve ark. ⁽⁹⁹⁾
<i>Crassostrea cornucopiae</i>		0/6	-	-	

Araştırmacılar soğukta saklama işlemlerinin ve hafif pişirme işleminin *C. difficile* sporlarında herhangi bir azalmaya neden olmadığını, ancak 80°C uygulanan ısı işleminin PBS ve gıda matrislerinde benzer seviyelerde azalma sağladığını ifade etmişlerdir. Metcalf ve ark.⁽⁹³⁾ dondurulmuş deniz tarağı ve dondurulmuş karideslerde *C. difficile* varlığını bildirmişlerdir. Gıdalara uygulanacak yeterli pişirme sıcaklığı, mikrobiyal kontrolü sağlamakla birlikte, gıdanın özelliklerine ve bileşenlerine göre değişmektedir. Yapılan çalışmalar, deniz ürünleri için önerilen sıcaklıklarda *C. difficile*'nin inhibe olmadığını göstermektedir.

Candel-Perez ve ark.⁽⁹⁹⁾ İspanya'da hem balıkçılardan hem de marketlerden temin ettikleri 129 yumuşakça örneğinin 11'inde (%8.5) *C. difficile* tespit etmişlerdir. Pişirilmiş ve modifiye atmosfer paketlenmiş midyelerde ise *C. difficile* saptamamışlardır. Dört *C. difficile* izolatının ise, toksin A ve B'nin üretiminden sorumlu genleri barındırdığını belirlemişlerdir. Elde ettikleri izolatların tamamı ısı işlem görmemiş örneklerden elde edilmiştir. Başka bir çalışmada⁹⁴, Adriyatik denizi'nden toplanan 702 midye örneğinin 118'inde *C. difficile* saptanmıştır. İzolatların %66.4'ünün toksinojenik olduğu ve bazılarının hipervirulent olduğu belirtilmiştir. Ayrıca %40.7'sinin Avrupa'da *C. difficile* enfeksiyonlarında yaygın olarak izole edilen PCR ribotipleri ile örtüştüğünü ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, elde edilen izolatların tamamının metronidazole duyarlı, sadece bir izolatın vankomisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Suda yaşayan organizmalar tarafından üretilen, salınan ve sızdırılan polimerik bileşenler ve hücre dışı polisakkaritlerden oluşan müsila virüsler, bakteriler, fitoplankton ve zooplankton olmak üzere çeşitli organizmaları barındırabilir⁽¹⁰⁰⁾. Kalın müsila tabakası yüzeyi kaplayarak su ile atmosfer arasındaki etkileşimi sınırlamakta ve sudaki oksijenin tükenmesine neden olabilmektedir⁽¹⁰¹⁾. Deniz müsila ları aralarında *Clostridium* türlerinin de olduğu, gıda kaynaklı hastalıkların çoğundan sorumlu olan patojen bakterilerin bulaşmasında araç olabilir⁽¹⁰²⁾. Çözünmüş ve partiküler organik maddelerin (POM) birikmesi, müsila oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır⁽¹⁰³⁾. Pasquale ve ark.⁽⁸⁹⁾ 21 adet istiridye, midye ve

zooplankton örneğinin dokuz tanesinde *C. difficile* saptadıklarını ve izolatların çoğunun toksin A/B pozitif olduğunu, bilinen altı farklı PCR ribotipini (003, 005, 009, 010, 056 ve 066) tanımlanmış olup, bir suşun, yeni bir PCR ribotipini temsil edebileceğini ifade etmişlerdir. Yazarlar zooplankton örneklerinde *C. difficile* varlığının, zooplanktonların POM üzerinde beslenmesi ile ilişkilendirilebileceğini, POM'un anaerobik bakterilerin hayatta kalmasına ve aktivitesine destek veren anaerobik mikro nişler sağladığını belirtmişlerdir. Deniz ürünlerinde *C. difficile* varlığını araştıran çalışmalar (Tablo 1), İtalya, Hırvatistan ve diğer Balkan ülkeleri için önemli bir balıkçılık ve deniz ürünleri kaynağı olan Adriyatik Denizi'nde yoğunlaşmıştır. Adriyatik Denizi, turizm açısından önemli bir bölge olduğu gibi, çevresel kirlenme ve müsila oluşumu gibi sorunlara maruz kalması da bu durumun sebepleri arasında gösterilebilir. Adriyatik Denizi'nin besin maddelerinin büyük bir kısmı yüzey akışı, kentsel deşarjlar ve rüzgar yoluyla taşınmaktadır. Kıyı şeritlerinde çeşitli kentsel, morfolojik, hidrolojik ve oşinografik değişkenlerin etkili olduğu, suyun dikey karışımının batı kıyısına göre doğu kıyısında daha belirgin olduğu bildirilmiştir⁽¹⁰⁴⁾.

Tablo 1'den de görüldüğü gibi Pasquale ve ark.⁽¹⁰⁵⁾ İtalya'nın güneyindeki çiftliklerden, balıkçılardan ve arıtma tesislerinden elde ettikleri 53 midye örneğinde %49 oranında *C. difficile* saptamışlardır. Elde ettikleri izolatların %58'inin toksinojenik olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca çalışma alanındaki deniz suyu ve sedimanların mikrobiyolojik kalitesinin Sarno Nehri tarafından taşınan kanalizasyonun artırılmamasından ve drenaj hendeklerinden olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir. Troiano ve ark.⁽⁹²⁾ tarafından daha sonraki yıllarda yapılan çalışmada ise daha fazla midye örneği incelemesine rağmen daha düşük oranda *C. difficile* varlığı tespit edilmiştir. Adriyatik denizine boşalan farklı kirlilik seviyelerindeki üç nehirden yapılan diğer çalışmada⁽¹⁰⁶⁾ nehirlerin patojenik bakterileri kıyı denizine taşıdığını doğrulamaktadır. İşlenmiş su ürünlerinde *C. difficile* tespit edilmiş olması hem bakterinin sporlu bir bakteri olarak işleme koşullarına dirençli olmasının ayrıca biyofilm oluşturarak işleme yüzeylerinden bulaşma olabileceğinin göstergesi olmuştur^(93,97).

Farklı yıllarda yapılan çalışmalarda farklı oranlarda *C. difficile* izolasyonu yapılmasında, su kaynaklarının kirliliği, farklı bölgelerden örnek alınması, iklim değişikliğine bağlı sıcaklık artışı ve müsilaj varlığı vb. gibi çeşitli faktörler etkili olmuş olabilir.

Su ürünlerinin toplandığı/yetiştirildiği su kaynaklarının düzenli test edilmesi ve *C. difficile* kontaminasyonunun izlenmesi, su ürünleri ile çalışan kişilerin uygun hijyen önlemlerini alması, su ürünlerinin diğer gıdalar ile temasının önlenmesi için ayrı hazırlama ve saklama alanının kullanılması, uygun işleme tekniklerinin kullanılması ve önerilen pişirme sıcaklığının *C. difficile* için gözden geçirilmesi gibi önlemler su ürünlerinden insanlara *C. difficile* bulaşma riskini azaltabilir.

Su ürünlerinden *Clostridioides difficile* izolasyonu

Gıdalardan *C. difficile* izolasyonunda altın bir standart olmamakla birlikte su ürünlerinden *C. difficile* izolasyonunda literatürde kullanılan yöntemler Tablo 2'de özetlenmiştir. Su ürünlerinde *C. difficile* izolasyonu diğer gıdalarda da olduğu gibi

ön zenginleştirmeyi ve ardından seçici besiyerinde kolonilerin tanımlanmasını ve doğrulanmasını içermektedir. Sodyum taurokolat içeren Brain Heart Infusion (BHI)^(92,105,108), CDEB⁽⁸⁹⁾ TCCFB⁽⁹⁴⁾, CDGM⁽⁹³⁾, sodyum taurokolat ve lizozim katkılı CCFB⁽¹⁰⁹⁾ ön zenginleştirme besiyerleri olarak kullanılmıştır. Rodriguez ve ark.⁽⁹⁷⁾ ise tütsülenmiş, kurutulmuş tatlı su balıklarında *C. difficile* varlığını CCFT (CC-Fruktoz Taurokolat) besiyerinde hem ön zenginleştirme hem de doğrudan kültür besiyerine ekim yöntemi ile araştırmışlardır. *C. difficile* pozitif örneklerin %75'ini ön zenginleştirme uygulanan örneklerden elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca, balıkların kurutulması sırasında uygulanan 80°C'lik sıcaklığın *C. difficile* sporları için ölümcül seviyede olmadığını ancak bakterinin geri kazanılması için gelişme koşullarının bir ön zenginleştirme ortamıyla daha iyi sağlandığını bu yüzden de doğrudan kültür yöntemi ile tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Ön zenginleştirmenin ardından selektif ortam amacıyla %5 at kanı katkılı CDMN^(89,92,94,105), siklosterin-sefoksitin katkılı CDSA⁽¹⁰⁸⁾, Blood Agar⁽⁹³⁾ ve at kanı içeren CCFA⁽¹⁰⁹⁾ besiyerleri kullanılmıştır. Ön zenginleştirme için inkübasyon süreleri 7-10 gün arasında değişkenlik göstermiştir. Vegetatif hücrelerin

Tablo 2. Su ürünlerinden *Clostridioides difficile* izolasyonunda kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması

Su ürünü	Örnek/Ön zenginleştirme sıvısı miktarı	Ön zenginleştirme Besiyeri/inkübasyon süresi	Isı/Alkol şoku	Selektif besiyeri/inkübasyon süresi	Kaynak
Çift kabuklu yumuşakça	10 g / 40 mL	BHI+sodyum taurokolat (1.0 g/L)+MN/10 gün	(1:1, %96 etil alkol) 50 dk	CDMN+at kanı (%5)/48 saat	Pasquale ve ark. ⁽¹⁰⁵⁾
Çift kabuklu yumuşakça	10 g / 40 mL	CDEB+MN/10 gün	(1:1, %96 etil alkol) 50 dk	CDMN+at kanı (%5)/48 saat	Pasquale ve ark. ⁽⁸⁹⁾
Çift kabuklu yumuşakça	10 g / 40 mL	BHI+sodyum taurokolat (1.0 g/L)+MN/10 gün	(1:1, %96 etil alkol) 50 dk	CDMN+at kanı (%5)/48 saat	Troiano ve ark. ⁽⁹²⁾
Çift kabuklu yumuşakça	10 g / 40 mL	TCCFB/10 gün	(1:1, %96 etil alkol) 60 dk	CDMN+at kanı (%5)+eskülin (1g/L)/48 saat	Agnoletti ve ark. ⁽⁹⁴⁾
İstiridyeye	50 g / 40 mL	BHI+ sodyum taurokolat (1.0 g/L)+CC/10 gün	(1:1, %96 etil alkol) 50 dk	CDSA+CC/48 saat	Montazeri ve ark. ⁽¹⁰⁸⁾
Çift kabuklu yumuşakça ve balık	15 g / 50 mL	CDGM+MN/7 gün	(1:1, %96 etil alkol) 60 dk	Blood Agar/48 saat	Metcalfe ve ark. ⁽⁹³⁾
Çift kabuklu yumuşakça ve karides	10 g / 90 mL	CCFB+ sodyum taurokolat+lizozim/7 gün	Blood agar üzerinde alkol şoku	CCFA+at kanı (%7, v/v)/48 saat ChromID	Tkalec ve ark. ⁽¹⁰⁹⁾

TCCFB: Taurokolat sefoksitin siklosterin fruktoz Broth CDEB: *C. difficile* enrichment broth (proteaz pepton, fruktoz, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, NaCl, sodyum taurokolat) CDGM: *C. difficile* growth medium (proteaz pepton, Na₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O, NaCl, fruktoz, sodyum taurokolat) BHI: Brain Heart Infusion Agar CCFB: siklosterin-sefoksitin-fruktoz agar MN: Moksolaktam-Norfloksasin CC: Siklosterin-sefoksitin.

ortadan kaldırılması amacıyla ısı şoku^(110,111) ve alkol şoku uygulanmaktadır. Literatürde su ürünlerinde *C. difficile* varlığını araştıran çalışmaların tamamında alkol şoku uygulanmıştır.

Clostridioides difficile için selektif ortam oluşturmak amacıyla besiyerlerine ilave olarak hem Moksalaktam-Norfloksasin (MN) hem de Sikloserin-Sefoksitin (CC) kullanımı mevcuttur. Aspinall ve Hutchinson⁽¹¹²⁾ moksalaktam-norfloksasin katkısının, sikloserin-sefoksitin katkısına göre *C. difficile* için daha iyi bir selektif ortam oluşturduğunu bildirmiştir. Bunun yanında MN ve CC gibi seçici ajanların *C. difficile*'nin geri kazanımını olumsuz yönde etkilediği ve gıda örneklerinden yalnızca dirençli *C. difficile* izolatlarının geri kazanılmasına olanak sağladığı da ifade edilmiştir⁽¹¹³⁾. Benzer şekilde Tosun ve ark.⁽¹¹⁴⁾ gıdalara inoküle ettikleri *C. difficile*'nin geri kazanılması çalışmalarında MN içeren besiyerinde inoküle ettikleri standart *C. difficile* suşlarının da inhibe olduğunu, CC içeren besiyerinde ise *C. difficile* dışındaki anaerob floranın inhibe olmadığı bildirmişlerdir. Bu durum var olan *C. difficile* izolatlarının yakalanmasını da güçleştirebilmektedir.

Su ürünlerinde *C. difficile* görülme sıklığındaki farklılık izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar ile ilişkilendirilebileceği gibi örnekleme stratejilerine, örnekleme yapıldığı mevsime, suyun sıcaklığına, tuzluluğuna ve örneklenen su ürününün çeşidine göre farklılık gösterebilir. Agnoletti ve ark.⁽⁹⁴⁾ deniz dibinden daha uzakta beslenen midyelere kıyasla kuma gömülü olarak yaşayan istiridyelerin *C. difficile* ile kontamine olma olasılığının 2.4 kat daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

SONUÇ

CDI için yapılan araştırmalar başlangıçta etkili tedavilerin belirlenmesine odaklanmıştır. Ancak daha fazla CDI salgını ortaya çıktıkça hastanelerde sağlık hizmetleriyle ilişkili salgınları kontrol etmek için farklı stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç giderek artmaktadır. *C. difficile*'nin su ürünlerinde ve sulara yayılımını daha iyi anlamak ve kontrol altına almak için yapılacak çalışmalarda *C. difficile* yayılımının izlenmesi için kapsamlı ve sürekli izleme

programları oluşturulmalıdır. İzleme programları, sağlık yetkilileri ve su ürünleri üreticileri arasında iş birliği yapılarak geliştirilebilir. Özellikle tarım ve hayvancılık faaliyetlerinin yoğun olduğu bölgelerde, su kaynaklarının düzenli olarak test edilmesi büyük önem taşımaktadır. *C. difficile*'nin su ürünleri ve sular üzerinden yayılımına katkıda bulunan çevresel ve insan kaynaklı risk faktörleri detaylı bir şekilde analiz edilmelidir. Su ürünleri ve sular yoluyla bulaşma riskini artıran faktörler, örneğin antibiyotik kullanımının yaygınlığı ve atık yönetim uygulamaları, dikkatle incelenmelidir. Özellikle su ürünleri ve sulara bulunan suşların genetik profili ve toksin üretim özellikleri üzerine araştırmalar yoğunlaştırılmalı ve bu çalışmaların sonuçları kamuya açık veri tabanlarında paylaşılmalıdır. Halk sağlığı ve eğitim programları, su ürünleri ve sular yoluyla bulaşma riskleri hakkında farkındalığı artırmalıdır. Ulusal ve yerel medya ve topluluk eğitim seminerleri aracılığıyla bu programlar geniş kitlelere ulaştırılabilir. Gıda güvenliği ve hijyen uygulamaları konusunda eğitimler verilmeli ve bu alanda farkındalık kampanyaları düzenlenmelidir. Mevcut politika ve yönetmelikler, su ürünleri ve sular yoluyla *C. difficile* yayılımını engelleyecek şekilde güncellenmelidir. Bu güncellemeler düzenleyici kurumlar tarafından yapılacak danışma toplantıları ve çalıştaylar ile sağlanabilir. Bu önerilerin değerlendirilmesi, *C. difficile* ile ilişkili enfeksiyon riskini azaltarak toplumun genel sağlığını koruyacak, aynı zamanda su ürünleri ve su kaynaklarının güvenliğini artıracaktır. Bu adımların hayata geçirilmesi, ilgili tüm paydaşların iş birliği ve kararlılığıyla, *C. difficile* ile mücadelenin etkinliği ve sürdürülebilirliği açısından önemlidir.

Teşekkür: Melike Nur Tosun Demir ve Gizem Taylan Yalçın YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Bursu ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Bu derleme, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBA-2019-3105 numaralı proje kapsamında yapılan araştırmalardan hazırlanmıştır.

Acknowledgement: Melike Nur Tosun Demir and Gizem Taylan Yalçın were supported by YÖK 100/2000 PhD scholarship.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: This work was supported by the Canakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Projects Coordination Unit with project number FBA-2019-3105.

KAYNAKLAR

- Kelliher K, Kirton OC. Infections in critically ill patients. In: Hupp JR, Ferneini EM, editors. Head, neck, and orofacial infections: An interdisciplinary approach. Elsevier; 2016:383-94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-28945-0.00028-4>
- Hookman P, Barkin JS. *Clostridium difficile* associated infection, diarrhea and colitis. World J Gastroenterol. 2009;15(13):1554-80. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.1554>
- Reigadas E, Vázquez-Cuesta S, Villar-Gómara L, et al. Role of *Clostridioides difficile* in hospital environment and healthcare workers. Anaerobe. 2020;63:102204. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102204>
- Tschudin-Sutter S. *Clostridioides difficile* infection in outpatient settings - the need for studies on clinical impact. Clin Microbiol Infect. 2019;25(5):534-35. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.024>
- Newcomer EP, Fishbein SRS, Zhang K, et al. Genomic surveillance of *Clostridioides difficile* transmission and virulence in a healthcare setting. mBio. 2024;15(3):e0330023. <https://doi.org/10.1128/mbio.03300-23>
- Sheth PM, Douchant K, Uyanwune Y, et al. Evidence of transmission of *Clostridium difficile* in asymptomatic patients following admission screening in a tertiary care hospital. PLoS One. 2019;14(2):e0207138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207138>
- Halstead FD, Ravi A, Thomson N, et al. Whole genome sequencing of toxigenic *Clostridium difficile* in asymptomatic carriers: insights into possible role in transmission. J Hosp Infect. 2019;102(2):125-34. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.10.012>
- Lim SC, Knight DR, Riley TV. *Clostridium difficile* and one health. Clin Microbiol Infect. 2020;26(7):857-63. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.10.023>
- World Health Organization (WHO). Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. WHO; 2008.
- Hain-Saunders NMR, Knight DR, Bruce M, Riley TV. *Clostridioides difficile* infection and one health: an equine perspective. Environ Microbiol. 2022;24(3):985-97. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15898>
- Avberšek J, Pirš T, Pate M, Rupnik M, Ocepek M. *Clostridium difficile* in goats and sheep in Slovenia: Characterisation of strains and evidence of age-related shedding. Anaerobe. 2014;28:163-67. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.06.009>
- Alves F, Castro R, Pinto M, et al. Molecular epidemiology of *Clostridioides difficile* in companion animals: Genetic overlap with human strains and public health concerns. Front Public Health. 2023;10:1070258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1070258>
- Freier L, Zacharias N, Gemein S, et al. Environmental contamination and persistence of *Clostridioides difficile* in hospital wastewater systems. Appl Environ Microbiol. 2023;89(5):e0001423. <https://doi.org/10.1128/aem.00014-23>
- Cautivo-Reyes K, Knight DR, Bowie D, Moreira-Grez B, Whiteley AS, Riley TV. Biogeographic distribution and molecular epidemiology of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in Western Australian soils. Appl Environ Microbiol. 2023;89(10):e0037923. <https://doi.org/10.1128/aem.00379-23>
- Dharmasena M, Jiang X. Improving culture media for the isolation of *Clostridium difficile* from compost. Anaerobe. 2018;51:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.002>
- Ansarian Barezi A, Shakerian A, Rahimi E, Esfandiari Z. Examining the extent of contamination, antibiotic resistance, and genetic diversity of *Clostridioides (Clostridium) difficile* strains in meat and feces of some native birds of Iran. Biomed Res Int. 2023;2023:3524091. <https://doi.org/10.1155/2023/3524091>
- Duc HM, Hoa TTK, Ha CTT, et al. Prevalence and antibiotic resistance profile of *Clostridium perfringens* isolated from pork and chicken meat in Vietnam. Pathogens. 2024;13(5):400. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050400>
- Norman KN, Harvey RB, Andrews K, et al. Survey of *Clostridium difficile* in retail seafood in College Station, Texas. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2014;31(6):1127-9. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.888785>
- Eckert C, Burghoffer B, Barbut F. Contamination of ready-to-eat raw vegetables with *Clostridium difficile* in France. J Med Microbiol. 2013;62(2013):1435-8. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.056358-0>

20. Mitchell M, Nguyen SV, Macori G, Bolton D, et al. *Clostridioides difficile* as a potential pathogen of importance to One Health: A review. *Foodborne Pathog Dis.* 2020;19(12):806-16. <https://doi.org/10.1089/fpd.2022.0037>
21. Hellberg RS, Chu E. Effects of climate change on the persistence and dispersal of foodborne bacterial pathogens in the outdoor environment: A review. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(4):548-72. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.972335>
22. Ghazani M, FitzGerald G, Hu W, Toloo GS, Xu Z. Temperature variability and gastrointestinal infections: A review of impacts and future perspectives. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(4):766. <https://doi.org/10.3390/ijerph15040766>
23. Sadeghi A, Leddin D, Malekzadeh R. Mini Review: The impact of climate change on gastrointestinal health. *Middle East J Dig Dis.* 2023;15(2):72-5. <https://doi.org/10.34172/mejdd.2023.325>
24. Lin CJ, Wade TJ, Hilborn ED. Flooding and *Clostridium difficile* infection: A case-crossover analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2015;12(6):6948-64. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606948>
25. Cersosimo LM, Worley JN, Bry L. Approaching toxigenic Clostridia from a One Health perspective. *Anaerobe.* 2024;87:102839. <https://doi.org/10.1016/J.ANAEROBE.2024.102839>
26. Markovska R, Dimitrov G, Gergova R, Boyanova L. *Clostridioides difficile*, a new “Superbug.” *Microorganisms.* 2023;11(4):845. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040845>
27. Dop D, Marcu IR, Padureanu V, et al. *Clostridium difficile* infection in pediatric patients (Review). *Biomed Rep.* 2024;20(2):18. <https://doi.org/10.3892/br.2023.1706>
28. Kuipers EJ, Surawicz CM. *Clostridium difficile* infection. *Lancet.* 2008;371(9623):1486-8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60635-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60635-2)
29. Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, Finegold SM. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O’Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe.* 2016;40:95-9. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.06.008>
30. Tan DT. A *Clostridioides difficile* surveillance study of Canadian retail meat samples from 2016-2018: a possible source of human clinical infections? [MSc Thesis]. Canada: University of Manitoba; 2022.
31. Oren A, Rupnik M. *Clostridium difficile* and *Clostridioides difficile*: Two validly published and correct names. *Anaerobe.* 2018;52:125-6. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.07.005>
32. Knight DR, Riley TV. Genomic delineation of zoonotic origins of *Clostridium difficile*. *Front Public Health.* 2019;7:164. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00164>
33. Chamgordani S, Yadegar A, Ghourchian H. C. *difficile* biomarkers, pathogenicity and detection. *Clinica Chimica Acta.* 2024;558:119674. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2024.119674>
34. Sugeng CK. Determining the growth limiting conditions and prevalence of *Clostridium difficile* in foods [MSc Thesis]. Canada: University of Ottawa; 2012.
35. Doyle ME. *Clostridium Difficile* as a risk associated with animal sources. Food Research Institute. FRI Food Safety Reviews. 2013. [https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRI_Brief_Cdifficile_Jan2013.pdf] (Erişim Tarihi: 10.Eylül.2024)
36. Sinnathamby ES, Mason JW, Flanagan CJ, et al. *Clostridioides difficile* infection: A clinical review of pathogenesis, clinical considerations, and treatment strategies. *Cureus.* 2023;15(12):e51167. <https://doi.org/10.7759/cureus.51167>
37. Napolitano LM, Edmiston CE. *Clostridium difficile* disease: diagnosis, pathogenesis, and treatment update. *Surgery.* 2017;162(2):325-48. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2017.01.018>
38. Wang L, Villafuerte Gálvez JA, Lee C, et al. Understanding host immune responses in *Clostridioides difficile* infection: Implications for pathogenesis and immunotherapy. *Imeta.* 2024;3(3):e200. <https://doi.org/10.1002/imt2.200>
39. Masset Z, Gunaratnam S, Millette M, McFarland LV, Lacroix M. Environmental and Nutritional Parameters Modulating Genetic Expression for Virulence Factors of *Clostridioides difficile*. *Antibiotics (Basel).* 2024;13(4):365. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040365>
40. Stămăteanu LO, Pleşca CE, Miftode IL, et al. “Primum, non nocere”: the epidemiology of toxigenic *Clostridioides difficile* strains in the antibiotic era—insights from a prospective study at a regional infectious diseases hospital in Eastern Europe. *Antibiotics.* 2024;13(5):461. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050461>
41. Cheknis A, Johnson S, Chesnel L, et al. Molecular epidemiology of *Clostridioides (Clostridium) difficile* strains recovered from clinical trials in the US, Canada and Europe from 2006-2009 to 2012-2015. *Anaerobe.* 2018;53:38-42. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.05.009>
42. Marujo V, Arvand M. The largely unnoticed spread of *Clostridioides difficile* PCR ribotype 027 in Germany after 2010. *Infect Prev Pract.* 2020;2(4):100102. <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2020.100102>

43. Drobniak J, Pobrotyn P, Belovičová M, Madziarska K, Trocha M, Baran M. Mortality in *Clostridioides difficile* infection among patients hospitalized at the university clinical hospital in Wrocław, Poland – a 3-year observational study. *BMC Infect Dis.* 2024;24(1):625. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09495-7>
44. Asensio Á, Vallejo-Plaza A, Parra LM, et al. Epidemiology of *Clostridioides difficile* infection in hospitalized patients in Spain: An eight-year review (2012–2019). *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2021;202S0213-005X(21)00179-8. <https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2021.04.006>
45. Markantonis JE, Fallon JT, Madan R, Alam MZ. *Clostridioides difficile* Infection: diagnosis and treatment challenges. *Pathogens.* 2024;13(2):118. <https://doi.org/10.3390/pathogens13020118>
46. Liu C, Monaghan T, Yadegar A, Louie T, Kao D. Insights into the evolving epidemiology of *Clostridioides difficile* infection and treatment: A global perspective. *Antibiotics.* 2023;12(7):1141. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071141>
47. Huang J, Li T, Zhu Y, et al. Molecular characterization and potential host-switching of swine farm associated *Clostridioides difficile* ST11. *Vet Microbiol.* 2024;294:110129. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110129>
48. Baban ST, Kuehne SA, Barketi-Klai A, et al. The role of flagella in *Clostridium difficile* pathogenesis: comparison between a non-epidemic and an epidemic strain. *PLoS One.* 2013;8(9):e73026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073026>
49. Aktories K, Schwan C, Jank T. *Clostridium difficile* toxin biology. *Annu Rev Microbiol.* 2017;71(1):281-307. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093458>
50. Janoir C. Virulence factors of *Clostridium difficile* and their role during infection. *Anaerobe.* 2016;37:13-24. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.10.009>
51. Aktories K, Papatheodorou P, Schwan C. Binary *Clostridium difficile* toxin (CDT) - A virulence factor disturbing the cytoskeleton. *Anaerobe.* 2018;53:21-9. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.001>
52. Geric B, Carman RJ, Rupnik M, et al. Binary toxin-producing, large clostridial toxin-negative *Clostridium difficile* strains are enterotoxic but do not cause disease in hamsters. *J Infect Dis.* 2006;193(8):1143-50. <https://doi.org/10.1086/501368>
53. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. *New Microbes New Infect.* 2015;3:12-7. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2014.10.003>
54. Denève C, Janoir C, Poilane I, Fantinato C, Collignon A. New trends in *Clostridium difficile* virulence and pathogenesis. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(Suppl 1):S24-8. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70012-3](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70012-3)
55. Zhu D, Sorg JA, Sun X. *Clostridioides difficile* biology: Sporulation, germination, and corresponding therapies for *C. difficile* infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:29. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00029>
56. Marsh JW, Harrison LH. *Clostridium difficile*: A food safety concern? In: Chen CY, Yan X, Jackson CR, editors. *Antimicrobial Resistance and Food Safety. Methods and Techniques.* Elsevier; 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801214-7.00010-7>
57. Marvaud JC, Bouttier S, Saunier J, Kansau I. *Clostridioides difficile* flagella. *Int J Mol Sci.* 2024;25(4):2202. <https://doi.org/10.3390/ijms25042202>
58. Awad MM, Johanesen PA, Carter GP, Rose E, Lyras D. *Clostridium difficile* virulence factors: Insights into an anaerobic spore-forming pathogen. *Gut Microbes.* 2014;5(5):579-93. <https://doi.org/10.4161/19490976.2014.969632>
59. Deng K, Talukdar PK, Sarker MR, Paredes-Sabja D, Torres JA. Survival of *Clostridium difficile* spores at low water activity. *Food Microbiol.* 2017;65:274-8. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.03.013>
60. Edwards AN, Karim ST, Pascual RA, Jowhar LM, Anderson SE, McBride SM. Chemical and stress resistances of *Clostridium difficile* spores and vegetative cells. *Front Microbiol.* 2016;7:1698. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01698>
61. Deng K, Plaza-Garrido A, Torres JA, Paredes-Sabja D. Survival of *Clostridium difficile* spores at low temperatures. *Food Microbiol.* 2015;46:218-21. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.022>
62. Arora J, Oudit D, Austin JW, Ramaswamy HS. Evaluation of thermal destruction kinetics of *Clostridium difficile* spores (ATCC 17857) in lean ground beef with first-order/Weibull modeling considerations. *J Food Process Eng.* 2019;42(7):e13273. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13273>
63. Gerding DN, Muto CA, Owens RC. Measures to control and prevent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2008;46(Suppl 1):S43-9. <https://doi.org/10.1086/521861>

64. Moore P, Kyne L, Martin A, Solomon K. Germination efficiency of clinical *Clostridium difficile* spores and correlation with ribotype, disease severity and therapy failure. *J Med Microbiol*. 2013;62(Pt 9):1405-13. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.056614-0>
65. Barbut F. How to eradicate *Clostridium difficile* from the environment. *J Hosp Infect*. 2015;89(4):287-95. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2014.12.007>
66. Anjuwon-Foster BR, Tamayo R. A genetic switch controls the production of flagella and toxins in *Clostridium difficile*. *PLoS Genet*. 2017;13(3):e1006701. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006701>
67. Abt MC, McKenney PT, Pamer EG. *Clostridium difficile* colitis: pathogenesis and host defence. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(10):609-20. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.108>
68. Spigaglia P, Barketi-Klai A, Collignon A, et al. Surface-layer (S-layer) of human and animal *Clostridium difficile* strains and their behaviour in adherence to epithelial cells and intestinal colonization. *J Med Microbiol*. 2013;62(Pt 9):1386-93. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.056556-0>
69. Marshall A, McGrath JW, Graham R, McMullan G. Food for thought-The link between *Clostridioides difficile* metabolism and pathogenesis. *PLoS Pathog*. 2023;19(1):e1011034. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011034>
70. Johannesen PA, Mackin KE, Hutton ML, et al. Disruption of the gut microbiome: *Clostridium difficile* infection and the threat of antibiotic resistance. *Genes (Basel)*. 2015;6(4):1347-60. <https://doi.org/10.3390/genes6041347>
71. Wright GD, Sutherland AD. New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends Mol Med*. 2007;13(6):260-7. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.04.004>
72. Roshan N, Riley TV, Hammer KA. Antimicrobial activity of natural products against *Clostridium difficile* in vitro. *J Appl Microbiol*. 2017;123(1):92-103. <https://doi.org/10.1111/jam.13486>
73. Banawas SS. *Clostridium difficile* Infections: A global overview of drug sensitivity and resistance mechanisms. *Biomed Res Int*. 2018;2018:8414257. <https://doi.org/10.1155/2018/8414257>
74. Spigaglia P, Mastrantonio P, Barbanti F. Antibiotic resistances of *Clostridium difficile*. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1050:137-59. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8_9
75. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis*. 2010;50(Suppl 1):S16-23. <https://doi.org/10.1086/647939>
76. Verraes C, Van Boxstael S, Van Meervenne E, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(7):2643-69. <https://doi.org/10.3390/ijerph10072643>
77. Thitaram SN, Frank JF, Siragusa GR, et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from food animals on farms. *Int J Food Microbiol*. 2016;227:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.017>
78. Marcos P, Doyle A, Whyte P, et al. Characterization of food chain *Clostridioides difficile* isolates in terms of ribotype and antimicrobial resistance. *Microorganisms*. 2023;11(5):1296. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051296>
79. Ghozzi K, Nakbi A, Challouf R, Dhiab R Ben. A review on microbial contamination cases in Tunisian coastal marine areas. *Water Sci Technol*. 2023;87(9):2142-58. <https://doi.org/10.2166/wst.2023.123>
80. Nikaeen M, Aghili Dehnavi H, Hssanzadeh A, Jalali M. Occurrence of *Clostridium difficile* in two types of wastewater treatment plants. *J Formos Med Assoc*. 2015;114(7):663-5. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2014.12.005>
81. Chisholm JM, Putsathit P, Riley TV, Lim SC. Spore-forming *Clostridium (Clostridioides) difficile* in wastewater treatment plants in Western Australia. *Microbiol Spectr*. 2023;11(1):e0358222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03582-22>
82. Numberger D, Riedel T, McEwen G, et al. Genomic analysis of three *Clostridioides difficile* isolates from urban water sources. *Anaerobe*. 2019;56:22-6. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.01.002>
83. Kotila SM, Pitkänen T, Brazier J, et al. *Clostridium difficile* contamination of public tap water distribution system during a waterborne outbreak in Finland. *Scand J Public Health*. 2013;41(5):541-5. <https://doi.org/10.1177/1403494813481648>
84. Al Saif N, Brazier JS. The distribution of *Clostridium difficile* in the environment of South Wales. *J Med Microbiol*. 1996;45(2):133-7. <https://doi.org/10.1099/00222615-45-2-133>
85. Lim S, Hain-Saunders NMR, Imwattana K, Putsathit P, Collins DA, Riley TV. Genetically related *Clostridium difficile* from water sources and human CDI cases revealed by whole-genome sequencing. *Environ Microbiol*. 2022;24(3):1221-30. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15821>
86. Henson MA, Phalak P. In silico Analysis of *Clostridium difficile* biofilm metabolism and treatment. *IFAC-PapersOnLine*. 2016;49(26):153-8. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2016.12.118>

87. Crowther GS, Chilton CH, Todhunter SL, et al. Comparison of planktonic and biofilm-associated communities of *Clostridium difficile* and indigenous gut microbiota in a triple-stage chemostat gut model. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(8):2137-47. <https://doi.org/10.1093/jac/dku116>
88. Pantaléon V, Monot M, Eckert C, et al. *Clostridium difficile* forms variable biofilms on abiotic surface. *Anaerobe.* 2018;53:34-37. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.05.006>
89. Pasquale V, Romano VJ, Rupnik M, et al. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from shellfish and marine environments. *Folia Microbiol (Praha).* 2011;56(5):431-7. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0068-3>
90. Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of *Clostridium difficile* in food and the environment: Significant sources of *C. difficile* community-acquired infection? *J Appl Microbiol.* 2017;122(3):542-53. <https://doi.org/10.1111/jam.13338>
91. Bolton D, Marcos P. The environment, farm animals and foods as sources of *Clostridioides difficile* infection in humans. *Foods.* 2023;12(5):1094. <https://doi.org/10.3390/foods12051094>
92. Troiano T, Harmanus C, Sanders IMJG, et al. Toxigenic *Clostridium difficile* PCR ribotypes in edible marine bivalve molluscs in Italy. *Int J Food Microbiol.* 2015;208:30-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.002>
93. Metcalf D, Avery BP, Janecko N, Matic N, Reid-Smith R, Weese JS. *Clostridium difficile* in seafood and fish. *Anaerobe.* 2011;17(2):85-6. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.02.008>
94. Agnoletti F, Arcangeli G, Barbanti F, et al. Survey, characterization and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* from marine bivalve shellfish of North Adriatic Sea. *Int J Food Microbiol.* 2019;298:74-80. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.003>
95. United States Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service. Safe Food Handling and Preparation. 2020. [<https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/safe-temperature-chart>]. (Erişim tarihi: 10.Eylül.2024)
96. Rodriguez-Palacios A, Lejeune JT. Moist-heat resistance, spore aging, and superdormancy in *Clostridium difficile*. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(9):3085-91. <https://doi.org/10.1128/AEM.01589-10>
97. Rodriguez C, Mith H, Taminiau B, et al. First isolation of *Clostridioides difficile* from smoked and dried freshwater fish in Cambodia. *Food Control.* 2021;124:107895. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107895>
98. Marcos P, Glennon C, Whyte P, et al. The effect of cold storage and cooking on the viability of *Clostridioides difficile* spores in consumer foods. *Food Microbiol.* 2023;112:104215. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104215>
99. Candel-Pérez C, Zapata-Galián E, López-Nicolás R, Ros-Berrueto G, Martínez-Graciá C. Presence of toxigenic *Clostridioides (Clostridium) difficile* in edible bivalve mollusks in Spain. *Food Sci Technol Int.* 2020;26(5):413-9. <https://doi.org/10.1177/1082013219894092>
100. Uflaz E, Akyüz E, Bolat F, Bolat P, Arslan Ö. Investigation of the effects of mucilage on Maritime Operation. *J Black Sea.* 2021;27(2):140-53.
101. Karadurmuş U, Sari M. Marine mucilage in the Sea of Marmara and its effects on the marine ecosystem: Mass deaths. *Turkish J Zool.* 2022;46(1):93-102. <https://doi.org/10.3906/zoo-2108-14>
102. Öncül M, Aktaş Z. Potential Clinical Hazards of Pathogenic Microorganisms in Mucilage. In: *Mucilage Problem in the Sea of Marmara.* Istanbul University Press; 2023:21-90. <https://doi.org/10.26650/b/ls32.2023.003.02>
103. Giani M, Savelli F, Berto D, Zangrando V, Čosović B, Vojvodić V. Temporal dynamics of dissolved and particulate organic carbon in the northern Adriatic Sea in relation to the mucilage events. *Sci Total Environ.* 2005;353(1-3):126-38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.062>
104. Penna A, Marini M, Ferrarin C, et al. Fecal bacteria contamination in the Adriatic Sea: Investigating environmental factors and modeling to manage recreational coastal waters. *Environ Pollut.* 2023;338:122700. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122700>
105. Pasquale V, Romano V, Rupnik M, et al. Occurrence of toxigenic *Clostridium difficile* in edible bivalve molluscs. *Food Microbiol.* 2012;31(2):309-12. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.001>
106. Basili M, Campanelli A, Frapiccini E, Luna GM, Quero GM. Occurrence and distribution of microbial pollutants in coastal areas of the Adriatic Sea influenced by river discharge. *Environ Pollut.* 2021;285:117672. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117672>

107. Nayeypour F, Rahimi E. Incidence and profiles of antibiotic resistance and putative genes of the *Clostridium difficile* recovered from fish. *Egyptian J Vet Sci (Egypt)*. 2020;51(3):349-56.
<https://doi.org/10.21608/ejvs.2020.20517.1142>
108. Montazeri N, Liu D, Janes ME. Occurrence of toxigenic *Clostridium difficile* in Louisiana Oysters (*Crassostrea virginica*) and environmental waters. *Food Nutr Sci*. 2015;6(11):1065-70.
<https://doi.org/10.4236/fns.2015.611110>
109. Tkalec V, Jamnikar-Ciglenecki U, Rupnik M, Vadnjal S, Zelenik K, Biasizzo M. *Clostridioides difficile* in national food surveillance, Slovenia, 2015 to 2017. *Euro Surveill*. 2020;25(16):1900479.
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.16.1900479>
110. Jöbstl M, Heuberger S, Indra A, Nepf R, Köfer J, Wagner M. *Clostridium difficile* in raw products of animal origin. *Int J Food Microbiol*. 2010;138(1-2):172-5.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.022>
111. Songer JG, Trinh HT, Killgore GE, Thompson AD, McDonald LC, Limbago BM. *Clostridium difficile* in retail meat products, USA, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(5):819-21.
<https://doi.org/10.3201/eid1505.081071>
112. Aspinall ST, Hutchinson DN. New selective medium for isolating *Clostridium difficile* from faeces. *J Clin Pathol*. 1992;45(9):812-4.
<https://doi.org/10.1136/jcp.45.9.812>
113. Barbosa J, Campos A, Teixeira P. Methods currently applied to study the prevalence of *difficile* in foods. *AIMS Agricult Fut*. 2020;5(1):102-28.
<https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.1.102>
114. Tosun MN, Taylan Yalcın G, Korkmazer G, Zorba M, Caner C, Demirel Zorba NN. Disinfection of *Clostridioides difficile* on spinach with epigallocatechin-based antimicrobial solutions and sodium hypochlorite. *Int J Food Microbiol*. 2023;402:110301.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110301>