

NERMIN TEKSOY

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

AKUT GASTROENTERİTLERDE *C. JEJUNI* VE *C. COLI*
DIŞINDAKİ *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

NERMİN TEKSOY

DANIŞMAN
PROF. DR. BETİGÜL ÖNGEN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

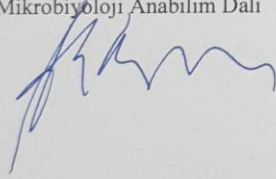
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Nermin Teksoy tarafından Prof. Dr. Betigül Öngen'in danışmanlığında hazırlanan "Akut gastroenteritlerde *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 06 /09 /2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Müzeyyen Mamal Torun
Bahçeşehir Üniversitesi, Bahçeşehir Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof Dr Ali Ağaçfıdan
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri (Danışman)**

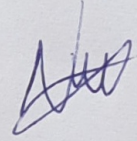
Prof. Dr. Betigül Öngen
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



BEYAN

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

NERMİN TEKSOY



İTHAF

Annem Sevim Teksoy'a ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecim boyunca ders ve tez dönemimde akademik bilgilerimi ve deneyimlerini paylaşan, tezimin her aşamasında karşılaştığım tüm sorunlarıma çözümleyici yaklaşımlar sunan, hem öğrencilik sürecimde hem de sosyal yaşamımda karşılaştığım her türlü sorunumu açık bir şekilde paylaşabildiğim, desteğini ve teşviğini eksik etmeyen, karşılık beklemezsin her zaman ayrıcalıklı olarak ilgisini ve sevgisini hissettiğim, her durumumu anlayışla karşılayan, öğrencisi olmaktan memnuniyet duyduğum değerli danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Betigül Öngen'e,

Lisansüstü eğitim sürecinde akademik bilgi ve deneyimlerini paylaşan İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Ali Ağaçfidan'a ve İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine,

Tez dönemimde ve sosyal hayatımda bana yol gösteren, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Safiye Kaya'ya, Yard. Doç. Mehmet İlkaç'a, Biyo. Ayşegül Şahin Aydın'a, Tıbbi Biyo. Başak Devenci'ye,

Lisansüstü eğitimim sürecinde her zaman yanımda olarak manevi desteklerini esirgemeyen başta Msc. Biyo. Neslihan Cihanoğlu, Dr. Aynur Velieva, Dr. Gözde Öztürk Altunyurt, Muazzez Uyar, PhD. Bio Tuba Vilken olmak üzere Dr. Cihan Yeşiloğlu'na, Msc. Biyo. Aykurt Kurt'a, Msc. Biyo. Cansu Demirci'ye, Ece Ertürk'e, mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına, teknisyen Kaniye Cinbat Ataseven'e, deneysel çalışmalarında deneyimlerini paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen PhD Biyo. Kutay Sarsar ve lab. Mukaddes Ünsal'a,

Tez çalışmalarımın sağlıklı bir şekilde yürütülmesi için gerekli malzeme temininde yardımlarını esirgemeyen Suat Şahin'e, çalışmalarımda kullandığım manuel gaz düzeneğini oluşturmam konusunda yardımcı olan Biyomedikal Biriminde görevli Müh. Utku Tuna Vatansever'e, gazları temin eden Burhan Sarıtaş'a, *Campylobacter* kontrol suşlarını ABD'den gönderen mikrobiyolog W. G. Miller ve teknisyen Mary Chapman'a,

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bu uzun ve zorlu süreçte fedakarlık gösteren ve desteklerini eksik etmeyen anneme, babama, kız kardeşime ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 58247



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	X
RESİMLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.TARİHÇE VE SINIFLANDIRMA	2
2.2.CAMPYLOBACTER CİNSİ BAKTERİLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ	3
2.3.İNSAN ENFEKSİYONLARINDA SIK GÖRÜLEN CAMPYLOBACTER TÜRLERİ.....	5
2.3.1.C. jejuni ve C. coli (Termofilik Türler).....	5
2.4.İNSAN ENFEKSİYONLARINDA DAHA AZ SIKLIKLA GÖRÜLEN CAMPYLOBACTER TÜRLERİ.....	6
2.4.1.Termofilik Türler (C. upsaliensis, C. lari, C. helveticus)	6
2.4.2.Termofilik Olmayan Türler (C. fetus, C. hyointestinalis, C. sputorum, C. ureolyticus, C. hominis)	7
2.4.3.Hidrojen Gereksinimi Gösteren Campylobacter Türleri (C. rectus, C. curvus, C. concisus, C. showae, C. gracilis, C. mucosalis)	10
2.5.CAMPYLOBACTER ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ	13
2.5.1.Rezervuar ve Bulaşma	15
2.6.CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR	16
2.6.1.Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları.....	16
2.6.2.Gastrointestinal Sistem Dışı Enfeksiyonlar	18
2.7.CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE TANISI	21
2.7.1.Örneklerin Taşınması ve Saklanması.....	21

2.7.2.Örneklerin Direkt İncelenmesi.....	21
2.7.2.1.Mikroskopi.....	21
2.7.2.2.Direkt antijen saptanması.....	22
2.7.2.3.Direkt nükleik asit saptanması.....	22
2.7.3.İzolasyon.....	23
2.7.3.1.Zenginleştirme yöntemi.....	24
2.7.3.2.Filtrasyon yöntemi.....	24
2.7.4. <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu.....	25
2.7.4.1.Fenotipik ve biyokimyasal identifikasyon.....	25
2.7.4.2.Moleküler identifikasyon.....	25
2.8.ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK VE TEDAVİ.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1.HASTA VE KONTROL GRUBU.....	28
3.2.GEREÇLER.....	28
3.2.1.İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar.....	28
3.2.1.1.Besiyerleri.....	28
3.2.2.PCR Yönteminde Kullanılan Malzemeler.....	35
3.3.YÖNTEMLER.....	39
3.3.1.Kültür Yöntemi ile <i>Campylobacter</i> İzolasyonu.....	40
3.3.1.1.Örneklerin ekimi.....	40
3.3.2. <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu.....	40
3.3.2.1.Fenotipik ve biyokimyasal yöntemlerle identifikasyon.....	40
3.3.2.1.PCR yöntemiyle identifikasyon.....	45
3.4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1.HASTALARA AİT DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER.....	50
4.2.DIŞKI ÖRNEKLERİNE AİT ÖZELLİKLER.....	50
4.3.KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN İZOLASYON BULGULARI.....	50
4.4.İDENTİFİKASYON BULGULARI.....	52
4.4.1.Fenotipik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Elde Edilen Bulgular.....	52
4.4.2.Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen İdentifikasyon Bulguları.....	58
4.4.2.1.Cins düzeyinde PCR sonuçları.....	58
4.4.2.2.Tür düzeyinde spesifik multipleks PCR (mPCR) sonuçları.....	59

4.4.3.İzole edilen <i>Campylobacter concisus</i> suşu: Hastaya ve suşa ait özellikler.....	61
5. TARTIŞMA	64
KAYNAKLAR	76
HAM VERİLER	85
FORMLAR	86
ETİK KURUL KARARI	89
PATENT HAKKI İZİNİ	90
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	91
ÖZGEÇMİŞ	92



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Campylobacter</i> türlerinin bazı fenotipik ve biyokimyasal özellikleri	12
Tablo2-2: <i>C. jejuni/coli</i> dışındaki diğer <i>Campylobacter</i> türlerinin izole edildiği kaynaklar.....	20-21
Tablo 3-1: Kullanılan primer dizileri.....	36
Tablo 3-2: Moleküler deneylerde kullanılan kontrol suşlar.....	38
Tablo 3-3: Fenotipik ve biyokimyasal deneylerde kullanılan kontrol suşlar.....	38
Tablo 4-1: Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı.....	50
Tablo4-2: Farklı besiyeri, yöntem ve üreme ortamlarında <i>Campylobacter</i> spp. izolasyonu.....	52
Tablo4-3: İzole edilen <i>Campylobacter</i> suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri.....	55-56

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4-1: Filtrasyon tekniği.....	52
Resim 4-2: Besiyerlerinde üreyen <i>Campylobacter</i> spp. kolonilerinin görünümü.....	53
Resim 4-3: Hippurat hidrolizi deneyi.....	54
Resim 4-4: <i>Campylobacter</i> spp. suşlarına uygulanan fenotipik ve biyokimyasal testler.....	57
Resim 4-5: Cins düzeyinde spesifik PCR.	58
Resim 4-6: Multipleks 1 PCR.	59
Resim 4-7: Hippurikaz (<i>hipO</i>) genine spesifik PCR.....	60
Resim 4-8: Multipleks 3 PCR.	61
Resim 4-9: <i>C. concisus</i> suşu; filtrasyon yöntemi ile üreme.	62
Resim 4-10: <i>C. concisus</i> suşunun mikroskobik görünümü.....	62

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABD:	Amerika Birlesik Devletleri
AFLP:	Çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizimi
ATCC:	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
atm:	Atmosfer
bv:	Biyovar
bp:	Baz çifti
CCUG:	Göteborg Üniversitesi Kültür Koleksiyonu (Culture Collection University of Goteborg)
CDC:	Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
cm:	Santimetre
CO ₂ :	Karbondioksit
dk:	Dakika
DNA:	Deoksiribonükleik asit
dATP:	Deoksiadenozin trifosfat
dCTP:	Deoksisitozin trifosfat
dGTP:	Deoksiguanozin trifosfat
dNTP:	Deoksinükleozid trifosfat
dTTP:	Deoksitimidin trifosfat
ECDC:	Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EDTA:	Etilendiamin tetra-asetik asit
EFSA:	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EIA:	Enzim immunoassay
Foodnet:	A.B.D. Gıda Kaynaklı Hastalıklar Sürveyans Ağı
g:	Santrifüj kuvveti
GBS:	Guillain-Barré sendromu
Gr:	Gram
<i>hipO</i> :	Hippurikaz geni
HIV:	İnsan immün yetmezlik virüsü
H ₂ :	Hidrojen
H ₂ S:	Hidrojen sülfür
IU:	Uluslararası ünite
IBH:	Enflamatuvar bağırsak hastalığı

MALDI-TOF MS:	Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı-kütle spektrometresi
mCCDA:	Modifiye kömürlü-sefoperazon-deoksikolat agar
MDR:	Çok ilaca dirençli
Mg:	Miligram
MgCl:	Magnezyum klorür
ml:	Mililitre
MLST:	Multilokus sekans tiplendirmesi
mM:	Milimolar
mPCR:	Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu
NAAT:	Nükleik asit amplifikasyon testi
NCTC:	Uluslararası Tip Kültür Koleksiyonu (National Collection of Type Cultures)
N ₂ :	Azot
O ₂ :	Oksijen
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PCR- DGGE:	Polimeraz zincir reaksiyonu-Denatüre edici gradient jel elektroforezi
PFGE:	Pulsed field jel elektroforezi (Değişken alanlı jel elektroforezi)
PNL:	Polimorf nüveli lökosit
RFLP:	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
rRNA:	Ribozomal ribonükleik asit
sn:	saniye
subsp:	Alt tür
TBA:	Triptoz kanlı agar
TBE:	Tris-borik asit-EDTA
TE:	Tris-EDTA
TSI:	Üç sekerli demirli besiyeri
µg:	mikrogram
µl:	Mikrolitre
µm:	Mikrometre
µM:	Mikromolar
UV:	Ultraviyole
U:	Ünite
V:	Volt
vb:	Ve benzeri

ÖZET

Teksoy, N. (2019). Akut gastroenteritlerde *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Campylobacter enfeksiyonları Avrupa ve Amerika'da en sık saptanan besin kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlardır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının %95'inden *C. jejuni* ve *C. coli* sorumlu olmakla birlikte son yıllarda *C. jejuni/coli* dışı diğer *Campylobacter* türlerinin bildiriminde artmış gözlenmektedir.

Bu çalışmada, *C. jejuni/coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin farklı konvansiyonel kültür yöntemleri ile izolasyonu ve ayrıca biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle identifikasyonu amaçlanmıştır.

Çalışmada, Aralık 2016- Ocak 2018 tarihleri arasında akut gastroenterit ön tanısı alan 500 hasta ve 100 sağlıklı bireye ait dışkı örnekleri hem seçici besiyerlerinin hem de filtrasyon tekniğinin uygulandığı kültür yöntemleri kullanılarak *Campylobacter* spp. varlığı açısından incelenmiştir. İzole edilen bakteriler fenotipik testler ve PCR yöntemiyle cins düzeyinde ve multipleks PCR yöntemi ile tür düzeyinde identifiye edilmiştir.

Çalışmamızda, tamamı hasta bireylerden olmak üzere toplam 31 (%6,2) *Campylobacter* cinsi bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin 21 (%67,8)'i *C. jejuni*, 9 (%29)'u *C. coli*, biri (%3,2) *C. concisus* olarak belirlenmiştir. Hippurat hidrolizi deneyi ile *C. jejuni* suşları pozitif; *C. coli* suşları ise negatif sonuç vermiştir. Ancak, mPCR yöntemiyle *C. concisus* olduğu belirlenen suşun hippurat testi ile yalancı pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Bu bulgu, hippurat geni (*hipO*) açısından spesifik PCR yöntemi ile doğrulanmıştır. Genel olarak *Campylobacter*'in tür düzeyinde identifikasyonunda moleküler yöntemlerin kullanılmasının daha güvenilir olduğu görülmüştür.

C. concisus ile infekte olan hastada karın ağrısı ve kusmanın eşlik ettiği yedi günde sonlanan akut kanlı ishal gelişmiştir. Dışkının mikroskopik incelemesinde polimorf nüveli lökositler saptanmış ve dışkıda *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*,

Yersinia ve *Vibrio* spp. ürememiştir. *C. concisus* suşunun ishal ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Bu çalışma, ülkemizde insanda *C. jejuni/coli* dışı diğer *Campylobacter* türlerin araştırıldığı ve *C. concisus*'un saptandığı ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter* cinsi, *C. concisus*, Filtrasyon yöntemi, multipleks PCR, gastroenterit

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 58247



ABSTRACT

Teksoy, N. (2019). Investigation of *Campylobacter* species other than *C. jejuni* and *C. coli* in acute gastroenteritis. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. MsC Thesis. İstanbul.

Campylobacter infections are the most commonly detected food-borne bacterial infections in Europe and America. Although *C. jejuni* and *C. coli* are responsible for 95% of *Campylobacter* infections, reports of non-*jejuni/coli* *Campylobacter* species have been increasing recently.

In this study, it was aimed to isolate *Campylobacter* species other than *C. jejuni/coli* by different conventional culture methods and also identify the strains by biochemical and molecular methods.

In this study, fecal samples of 500 patients admitted to the hospital with acute gastroenteritis between December 2016-January 2018 and those of 100 healthy individuals were evaluated for the presence of *Campylobacter* spp. by culture method both using a selective medium and membrane filter method. Bacteria were identified to genus level by conventional methods and PCR and to species level by multiplex PCR.

In our study 31 (6.2%) *Campylobacter* spp. were isolated all from ill individuals. Of these bacteria, 21 (67.8%) were *C. jejuni*, 9 (29%) were *C. coli* and one (3.2%) as *C. concisus*. *C. jejuni* strains gave positive result by hippurate hydrolysis test whereas *C. coli* strains gave negative. However, the strain which was determined to be *C. concisus* by mPCR gave false positive result. This finding was confirmed by PCR method specific for hippuricase (*hipO*) gene. In generally, the use of molecular methods for identification of *Campylobacter* at species level was found to be more reliable.

The patient infected by with *C. concisus* developed acute bloody diarrhea with abdominal pain and vomiting that ended in seven days. Microscopical analysis of the stool revealed polymorphonuclear leukocytes and *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Yersinia* and *Vibrio* were negative in the culture. *C. concisus* strain was thought to be associated with diarrhea.

The study was the first study carried out among humans in which *Campylobacter* species other than *C. jejuni/C.coli* were investigated and *C. concisus* was isolated.

Key Words: *Campylobacter* spp., *C. concisus*, Filtration technique, multiplex PCR, gastroenteritis

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 58247



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Campylobacter türleri dünya genelinde gıda kaynaklı bakteriyel ishallerin önde gelen nedenidir. Çocuk ve yaşlı hastalarda hafif veya ciddi seyirli enfeksiyonlara yol açabilmekte, enfeksiyon sonrası kalıcı nörolojik belirtiler görülebilmektedir (68). *Campylobacteriosis* besin kaynaklı enfeksiyonlar arasında Avrupa ve ABD’de ilk sırada yer alan bir zoonozdur (12, 20).

Campylobacter cinsine dâhil edilen yeni tür ve alt türlerin sayısı son taksonomik çalışmalarla giderek artmıştır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının %95’ini *C. jejuni* ve *C. coli* oluşturmakla birlikte, son yıllarda *C. jejuni/C. coli* dışı diğer *Campylobacter* türlerinin de bu enfeksiyonların önemli bir kısmından sorumlu olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (68).

Günümüzde *Campylobacter* enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısında kullanılan mevcut protokoller *C. jejuni/coli* (termofilik *Campylobacter*’ler) izolasyonuna yönelik olarak standardize edilmiştir. Bu durumun *C. jejuni/coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin düşük oranlarda izole edilmelerinin veya hiç saptanamamalarının sebebi olabileceği düşünülmektedir (42). Çalışmamızda ishali hasta dışkılarında farklı konvansiyonel kültür yöntemleri ve moleküler yöntemler kullanılarak *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin varlığı ve bu türlerin akut gastroenteritlerdeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Ülkemizde günümüze dek yapılmış çalışmalar termofilik *Campylobacter* türlerinin araştırılmasına yöneliktir. Ancak yeni ortaya çıkan *Campylobacter* türleri ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, *C. jejuni/coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliğine sahip olup çalışma sonucunda elde edilecek bulguların rutin klinik uygulamaya yön vereceği ve *Campylobacter* enfeksiyonlarının epidemiyolojisine katkı sağlayacağı kanısındayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE VE SINIFLANDIRMA

Campylobacter cinsi bakterilerin ilk tanımlanması Theodore Escherich'in, 'kolera infantum'dan öldüğünü düşündüğü çocukların kalın bağırsaklarından hazırladığı preparatlarda, kıvrık (spiral) şekilli bakterileri mikroskopik olarak gözlemlediği 1886 yılına uzanmaktadır (10, 68). Ancak *Campylobacter* kültürü Escherich'in bu ilk bulgularından 20 yıl kadar sonra yapılabilmektedir. J. McFadyean ve S. Stockman ilk kez 1906 yılında gebe koyunların uterus eksüdasından *Campylobacter*'leri izole etmişler ve 1913 yılında bildirmişlerdir. 1918 yılında benzer bakterileri düşük yapmış sığırların fetüslerinden izole eden T. Smith ve M. Taylor spiral şekilleri nedeniyle bu mikroorganizmaları *Vibrio* grubuna dahil etmişler ve *Vibrio fetus* ismini önermişlerdir (10, 69, 79). Daha sonra 1927 yılında sığır bağırsağından izole edilen benzer morfolojideki mikroaerofilik bakteriler *Vibrio jejuni*, 1944 yılında dizanterili domuz dışkılarından izole edilen bakteriler ise *Vibrio coli* olarak adlandırılmıştır (79).

İnsandan ise 1938'de 355 kişinin etkilendiği süt kaynaklı bir ishal salgınında bazı hastaların kan kültürlerinde 'V. jejuni'ye benzer' bakterilerin ürediği, 1947 yılında ikisi sonradan düşük yapan üç gebe kadının kanından V. fetus'un izole edildiği bildirilmiştir. 1957 yılında E. King V. fetus ile birçok ortak özelliğe sahip olmakla birlikte farklı biyokimyasal ve antijenik özelliklere sahip olan ve 'vibriolarla ilişkili' ('related vibrio') olarak adlandırdığı bakterileri tanımlamıştır. O dönemde selektif kültür tekniklerinin henüz geliştirilmemiş olmasına bağlı olarak 1972 yılına kadar literatürde sadece 12 'vibriolarla ilişkili' olgu bildirilmiştir (10).

Sebald ve Véron 1963'de, DNA'larında düşük baz (G+C) kompozisyonu içermeleri, non-fermentatif metabolizmaya sahip olmaları ve üremeleri için mikroaerofilik ortama gereksinim duymaları nedeniyle, bu bakterilerin gerçek *Vibrio* 'lardan ayrılarak *Campylobacter* adı verilen yeni bir cins altında toplanmasını önermişlerdir (16, 68).

1972 yılında Belçika'da şiddetli ishal ve yüksek ateşi olan 20 yaşındaki bir kadın hastanın kanından ve daha sonra küçük, kıvrık çomakların membrandan geçmesine izin veren ancak daha büyük fekal mikroorganizmaları tutan özel bir filtrasyon tekniği

kullanılarak hastanın dışkılarından 'vibriolarla ilişkili ('related vibrio')' bakteriler (*C. jejuni*) izole edilmiş ve bu ilk dışkı kültürü ile bakteriyeminin orijininin intestinal enfeksiyon olduğu gösterilmiştir (10, 66).

Campylobacter cinsi, taksonomik olarak *Proteobacteria* şubesi içerisinde epsilon *Proteobacteria* sınıfında ve *Campylobacteriales* takımında yer almaktadır (55). Bu takımda *Helicobacteriaceae* ve *Campylobacteraceae* olmak üzere iki aile bulunmaktadır. *Campylobacteraceae* ailesinde ise *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* cinsleri yer almaktadır (55, 59).

Campylobacter'lerin ve diğer mikroaerofilik gram negatif çomakların sınıflandırılması son yıllarda büyük ölçüde değişikliğe uğramıştır. DNA-rRNA hibridizasyon, 16S rRNA sekans analizi ve immünotiplendirme analizi gibi moleküler teknikler kullanılarak *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella* ve "Flexispira" cinsleri aynı filogenetik gruba (rRNA süperalesi VI) dâhil edilmiştir. rRNA süperalesi VI'da yer alan bakteriler üç ayrı rRNA kümesine ayrılmış ve rRNA grup I'i oluşturan bakterilerin (*C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari*, *C. hyointestinalis*, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. sputorum* ve *C. upsaliensis*) gerçek *Campylobacter*'ler olduğu bildirilmiştir. Daha sonra *Wolinella curva*, *W. recta*, *Bacteroides gracilis*, *B. ureolyticus* ve rRNA homoloji grup I'de yer alan gerçek *Campylobacter*'ler arasında yakın bir ilişki bulunarak bu bakteriler *Campylobacter* cinsi içine alınmış ve sırasıyla *C. curvus* ve *C. rectus*, *C. gracilis* ve *C. ureolyticus* olarak isimlendirilmiştir. *Campylobacter cinaedi* ve *C. fennelliae* türleri ise *Helicobacter* cinsine (sırasıyla *H. cinaedi* ve *H. fennelliae*) alınmıştır. rRNA grup II'de *Arcobacter* cinsi, rRNA grup III'de ise "Flexispira"nın da dahil edildiği *Helicobacter* ve tek türü bulunan *Wolinella* (*W. succinogenes*) cinsleri yer almaktadır (66). Yapılan çalışmalar sonucunda *Campylobacter* cinsinde bugün için 33 tür ve 14 alt tür bulunduğu bildirilmiştir (59).

2.2.CAMPYLOBACTER CİNSİ BAKTERİLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Campylobacter'ler mikroaerofilik (düşük O₂ gereksinimi gösteren) ve kapnofilik (yüksek CO₂ gereksinimi gösteren) özellikte, küçük (0.2–0.8 µm × 0.5–5 µm), kıvrık, spiral veya S-şeklinde, hareketli gram negatif çomaklardır. Hareketsiz olan *C. gracilis* ve birden fazla flagellası bulunan *C. showae* hariç diğer *Campylobacter* türleri sahip oldukları bir veya iki ucunda bulunan kılıfsız polar flagellaları ile tirbüşon benzeri

burgu tarzında ve hızlı hareket ederler (66, 68). Tipik bir gram negatif hücre duvarı yapısına sahiptirler. Cinsin başlıca antijeni dış membran lipopolisakaritidir (59).

Campylobacter cinsi bakteriler; besiyerlerinde kuru veya nemli, bazen mukoid olabilen yassı, düzensiz şekilli kolonilerden yuvarlak, konveks ve kenarları parlak görünümlü kolonilere kadar değişkenlik gösterebilen koloniler oluştururlar, bazen de ince bir tabaka şeklinde besiyerine yayılabilirler. Kolonileri sarımsıdan griye değişen renklerde veya pembemsi olabilir ve bakteri agar yüzeyindeki ekim çizgileri boyunca yoğun üreme eğilimi gösterir. Kanlı agarda hemoliz yapmazlar. Eski kültürlerde kokoid formda görülebilirler. Mikroskopik incelemelerde Gram boyama tekniği ile hazırlanan preparatlarda gram negatif, martı kanadı şeklindeki görünümleri çok tipiktir (17, 66).

Campylobacter türleri, *C. gracilis* hariç oksidaz pozitifdir. Katalaz aktiviteleri türe göre değişkenlik göstermektedir. Metabolizmaları nonfermantatif ve nonoksidatif özellikte olduğundan karbonhidratları metabolize edemezler; enerjilerini amino asitlerin yanı sıra 4- ve 6- karbonlu Krebs siklusu ara ürünlerinin kullanımından elde ederler (66, 68). Hippuratu hidrolize edebilme özelliğine sahip olan *C. jejuni*, bu özelliği ile diğer türlerden ayrılmaktadır (Tablo 2-1). *C. jejuni* dışında *C. avium*'un da hippurat pozitif olduğu bildirilmiş ancak tavuk ve hindilerden izole edilen bu tür henüz insandan izole edilmemiştir (21).

Bu bakteriler üremeleri için mikroaerofilik atmosfere (%5–7 oksijen, %5–10 karbondioksit ve dengeleyici nitrojen) gereksinim duyarlar. Üremeleri için genellikle 48-72 saat veya daha uzun süre inkübasyon gerektiren yavaş üreyen mikroorganizmalardır (59). Bazı türler için bu koşullar değişiklik gösterebilmektedir. Tüm *Campylobacter* türleri 37 °C'de üreyebilir ancak *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* ve *C. lari* gibi türlerin optimum üreme sıcaklığı 42-43 °C'dir; bu nedenle bu türler termofilik türler olarak adlandırılmaktadır (79). Yüksek sıcaklıkta üreme olasılıkla, termofilik *Campylobacter*'lerin doğal konakları olan kuşların normal vücut ısılarının 38-42 °C olması ve bu bakterilerin kuşların bağırsağında yaşamaya adaptasyonu nedeniyle (55).

C. concisus, *C. curvus*, *C. showae*, *C. rectus* gibi bazı türler hidrojen veya format bakımından zenginleştirilmiş mikroaerobik atmosfere ihtiyaç duymaktadırlar.

Ayrıca yavaş üreme özelliklerinden dolayı daha uzun süre inkübe edilmeleri gerekmektedir (42).

Bu bakteriler geniş bir çeşitlilikteki ekolojik konum ve ortamda yaşarlar. Bazı türleri insan ve hayvanlarda enfeksiyona neden olurken çoğu tür kanatlı ve memeli hayvanların gastrointestinal sistemini kolonize eder (66).

2.3.İNSAN ENFEKSİYONLARINDA SIK GÖRÜLEN *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİ

İnsanlarda görülen *Campylobacter* enfeksiyonlarının %90'ından fazlasına neden olan *C. jejuni* dışkı kültürlerinden en sık izole edilen türdür (17). *Campylobacter* gastroenteritlerinin %2-5'inin ise *Campylobacter coli* ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (59).

2.3.1.C. jejuni ve C. coli (Termofilik Türler)

C. jejuni, dünya genelinde bakteriyel gastroenteritlerin en sık nedenidir. *C. jejuni* enfeksiyonu ayrıca, Guillain-Barré sendromu ve Miller Fisher sendromu olarak bilinen önemli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. *C. coli*, *C. jejuni* gastroenteritleri ile benzer klinik tabloya (ortalama 6 günde sonlanan akut sulu veya kanlı ishal, ateş ve kramp tarzında karın ağrısı, vb.) neden olur ve klinik olarak birbirlerinden ayırt edilemezler. *C. jejuni* ve *C. coli* enfeksiyonları yaz mevsiminde daha yaygın görülmektedir (33). Biyokimyasal olarak da benzer özellik gösteren bu iki tür, *C. jejuni*'nin hippurati hidrolize etmesi ile birbirinden ayrılırlar (17).

C. jejuni'nin *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. jejuni* subsp. *doylei* olmak üzere iki alt türü tanımlanmıştır. *C. jejuni* subsp. *doylei*'nin fenotipik olarak nitratı nitrite indirgeyememesi bu alt türün *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve diğer bir çok *Campylobacter* türünden ayrımını sağlayan bir özelliğidir (21, 79).

2.4.İNSAN ENFEKSİYONLARINDA DAHA AZ SIKLIKLA GÖRÜLEN *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİ

Son yıllarda *Campylobacter* cinsi içerisinde yer alan *C. jejuni* ve *C. coli* dışında insan ve hayvan patojeni olarak kabul edilen diğer *Campylobacter* türlerinin sayısı giderek artmaktadır.

C. jejuni, halen dünya genelinde insanda görülen bakteriyel gastroenteritlerin önde gelen nedeni olmakla birlikte moleküler biyolojideki ilerlemeler ve bu bakterilerin üreme koşullarının daha iyi anlaşılmasıyla yeni kültür yöntemlerinin geliştirilmesi; *C. concisus*, *C. upsaliensis* ve *C. ureolyticus* gibi daha az bilinen ve yavaş üreyen *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve tespitine olanak sağlamaktadır. Ancak yeni tanımlanan tüm türlerin klinik önemleri ve patojenik potansiyelleri henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (54).

2.4.1. Termofilik Türler (*C. upsaliensis*, *C. lari*, *C. helveticus*)

Campylobacter upsaliensis

C. upsaliensis, ilk olarak 'CNW' (katalaz negatif veya zayıf negatif) *Campylobacter* grubunda tanımlanmıştır. *C. jejuni* subsp. *doylei*'yi de kapsayan bu bakterilerin dışkıdan izolasyonunda en iyi yöntem 37 °C inkübasyonun uygulandığı membran filtrasyon yöntemidir. Çünkü selektif besiyerlerinde bulunan birçok antimikrobiyal ajana duyarlıdırlar. Bilinen yedi serogrubu vardır. İshalli veya asemptomatik köpek ve kedi dışkılarından, ishalleri insan dışkılarından ve nadir olarak altta yatan hastalığı olan olguların kanından izole edildiği bildirilmektedir (79).

İnsanda gastroenterit olgularında, özellikle çocuklarda ve immün sistemi baskılanmış bireylerde klinik önemi vurgulanmaktadır. Bakım evlerinde *C. upsaliensis* ile ilişkili sporadik salgınlar bildirilmiştir. Örneğin iki farklı çocuk bakım evinde gerçekleşen ve çoğunda ishal gelişen çocukların dışkıları incelendiğinde sırasıyla 68 örneğin 14'ünde ve 22 örneğin 17'sinde *C. upsaliensis* suşu tespit (24). Güney Afrika'da ishalleri çocuk hasta dışkılarında *C. jejuni* ve *C. concisus*'dan sonra en sık olarak *C. upsaliensis* (%23.5) izole edilmiştir (39).

Ayrıca insanlarda gastroenterit dışında bakteriyemi, düşük ve göğüs apsesi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir (15).

Campylobacter lari

C. lari ilk olarak *Larus* cinsi martuların kloakal içeriklerinden izole edilmiştir. Önce *C. laridis*, daha sonra *C. lari* olarak adlandırılmıştır. Genellikle kuşlarda ve çok çeşitli diğer hayvanlarda (özellikle köpeklerde) ve doğal sularda bulunur. Deniz suyu ve kabuklu deniz ürünlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Üreaz [+] termofilik *Campylobacter* (UPTC) olarak tanımlanan bir subgrubu bulunmaktadır (79). Yapılan son filogenetik çalışmalara göre *C. lari* subsp. *concheus* ve *C. lari* subsp. *lari* alt türlerine ayrılmıştır (21). Ayrıca, yakın ilişkili olduğu diğer beş *Campylobacter* türü (*C. lari*, *C. insulaenigrae*, *C. volucris*, *C. subantarcticus* ve *C. peloridis*) ile birlikte *C. lari* grubunda yer almaktadır.

C. lari, geçmişte Kanada'da su kaynaklı bir enterit salgınının asıl etkeni olarak bildirilmiştir. Bu türün insanda *Campylobacter* enfeksiyonlarının yaklaşık yüzde %0,1'inden sorumlu olduğu bildirilmektedir (79). *C. jejuni* enfeksiyonlarına benzer enterite, nadiren ve özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde bakteriyemiye neden olmaktadır (66).

Campylobacter helveticus

C. upsaliensis ile yakın ilişkili termofilik bir türdür (79). Katalaz negatif özelliği ile diğer termofilik türlerden ayrılır (66). Evcil kedi ve köpek dışkılarından izole edilmekle birlikte kedilerden izole edilen *Campylobacter* izolatlarının yarısına yakınının *C. helveticus* olduğu belirtilmektedir (66). Az sayıda gastroenteritli hasta dışkılarından izole edilmekle birlikte henüz insanda enfeksiyonla ilişkilendirilmemiştir (21, 29).

2.4.2. Termofilik Olmayan Türler (*C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. sputorum*, *C. ureolyticus*, *C. hominis*)

Campylobacter fetus

C. fetus, başta sığırlar olmak üzere çiftlik hayvanlarında spontan düşük etkeni ve insanda fırsatçı patojen olarak kabul edilmektedir (15). Mikroaerofilik bir tür olmakla

birlikte fumarat veya nitrat varlığında anaerobik koşullar altında da üreyebilmektedir. Diğer türlerden farklı olarak 25 °C'de ve bazı suşları ise 42 °C'de de üreyebilir (79). *C. fetus* insanda bakteriyemiye neden olan en yaygın türler arasındadır. Sefalotine duyarlı oluşu ve çoğu suşlarının 42 °C'de üreyememesi sebebi ile, klinik laboratuvarlarda rutin *Campylobacter* kültüründe kullanılan seçici besiyerleri ve yüksek inkübasyon sıcaklığının bu türün az oranda izole edilmesine neden olabileceği düşünülmektedir (66).

Günümüzde, *C. fetus* üç alt türe ayrılmıştır. *C. fetus* subsp. *fetus* ve *C. fetus* subsp. *venerealis*; insan, koyun (sadece *C. fetus* subsp. *fetus*) ve sığırdan izole edilmektedir. Bu iki alt tür birbirinden temel iki biyokimyasal test (%1 glisin'de üreme ve H₂S üretimi) uygulanarak ayrılabilir. *C. fetus* subsp. *testidium*; genetik olarak diğer alt türlerden farklıdır ve çoğunlukla sürüngenlerden, aynı zamanda insanlardan da izole edilmektedir (15).

Campylobacter hyointestinalis

C. hyointestinalis ilk olarak 1980'de proliferatif enteritli domuzdan izole edilmiştir. Şimdiye dek çoğunlukla sağlıklı hayvanlardan (koyun, geyik, hamster, köpek ve sığır gibi) izole edilmiş olan, sporadik olarak ise çiftlik hayvanları ve insan enfeksiyonlarından da izole edilen yeni ortaya çıkan bir türdür (15). *C. hyointestinalis*, *C. fetus*'la benzer fenotipik özellikler göstermektedir. Hippurat negatif oluşunun dışında farklı olarak hidrojen varlığında TSI (Üç şekerli demirli besiyerinde) agarda bol H₂S üretmektedir. Sefalotin ve sefaperazon gibi sefalosporin grubu antibiyotiklere duyarlı olduğundan klinik laboratuvarlarda kullanılan *Campylobacter* türlerine yönelik selektif besiyerlerinde üreyemez (66).

C. hyointestinalis iki alt türe ayrılmıştır: *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, çeşitli hayvanlarda (domuz, sığır, geyik, ren geyiği, koyun, hamster, köpek) ve insanda da izolasyonu bildirilmiş ve insanda gastroenterit enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir.

C. hyointestinalis subsp. *lawsonii*, '*C. hyointestinalis* benzeri' bir grup bakteri olup domuz midesinde saptanmış ve yeni bir alt tür olarak tanımlanmıştır. Çoğunlukla domuz olmak üzere sığır ve ayrıca insan dışkılarından da izole edilmiştir (15).

Campylobacter sputorum

C. sputorum ilk olarak 1914 yılında akut bronşitli bir hastadan izole edilmiştir. Başta anaerop bakteri olarak kabul edilmiş daha sonra fakültatif mikroaerofil özellikte olduğu anlaşılmıştır (79). Sağlıklı bireylerin ağız florasında kolonize olan bu tür insanda dış eti ceplerinde gösterilmiştir ancak periyodontal hastalıklarla ilişkisi henüz netlik kazanmamıştır. Ayrıca insanlarda sağlıklı bireylerin ve gastroenteritli hastaların dışkısından, bakteriyemili hastaların kan kültüründen, aksiller apseden izolasyonu bildirilmiştir. Çeşitli hayvanlarda da saptanan bu bakteri koyun ve sığırların genital sisteminden, domuz ve köpeklerin klinik dışkı örneklerinden izole edilmiştir (15, 48).

C. sputorum bv. *sputorum*, *C. sputorum* bv. *bubulus*, *C. sputorum* bv. *fecalis* ve *C. sputorum* bv. *paraureolyticus* olmak üzere dört biyotip (biyovar) ' i vardır (39). Diğer biyovarlardan farklı olarak *C. sputorum* bv. *fecalis* katalaz pozitif, *C. sputorum* bv. *paraureolyticus* üreaz pozitif özelliğe sahiptir (55, 66).

Campylobacter ureolyticus

Bacteroides cinsinde yer alırken yapılan protein profili analizi ve korunmuş gen bölgelerinin moleküler çalışmaları sonucunda *Campylobacter* cinsine benzer özellik gösterdiği anlaşılarak *C. ureolyticus* adıyla tekrar sınıflandırılmıştır. Biyokimyasal olarak üreaz aktivitesine sahip bir türdür (6). Günümüze dek nadir olarak insanlarda yumuşak doku veya kemik enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu, ülser, artrit, oral, perianal ve yumuşak doku apsesi enfeksiyonlarından izole edilmekle birlikte son yıllarda daha sıklıkla gastroenterit ve enflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla (IBH) gündeme gelen yeniden önem kazanan bir türdür (15, 48, 54). Bir çalışmada ishalleri hasta dışkılarında moleküler yöntemlerle saptanan 349 *Campylobacter* suşu içinde *C. ureolyticus*'un *C. jejuni*'den sonra ikinci en sık (%23.8) saptanan tür olduğu bildirilmiştir (6). Ülseratif kolitli hastaların kolon biopsi örneklerinin tarandığı başka bir çalışmada *C. concisus*'la birlikte *C. ureolyticus* yüksek oranda saptanmıştır (58). Ayrıca insan dışında sığır (dışkı, süt) ve atta (endometriyum) izole edilmiştir (15, 54).

Campylobacter hominis

Geçmişte *Candidatus Campylobacter hominis* olarak bilinen bu tür, *Campylobacter hominis* adıyla yeniden adlandırılmıştır. Sağlıklı insan dışkısından

(%27) izole edilmiştir (44). Ağız florasında kommensal olarak bulunabileceği bildirilmiştir (21). Ayrıca, yakın zamanda inflamatuvar bağırsak hastalığı bulunan bireylerin biyopsi örneklerinde izolasyonunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Mikst enfeksiyon (*Clostridium hathewayi*) saptanan septisemili bir hastanın kan kültüründen izole edilmiştir. Çoğu *Campylobacter* türünün aksine hareketsiz olma özelliğine sahiptir (44, 48).

2.4.3.Hidrojen Gereksinimi Gösteren Campylobacter Türleri (*C. rectus*, *C. curvus*, *C. concisus*, *C. showae*, *C. gracilis*, *C. mucosalis*)

Diğer *Campylobacter* türlerinden farklı olarak üremeleri için hidrojen veya format tuzuna (formik asit tuzu) gereksinim duyan altı tür bulunmaktadır: *C. rectus*, *C. curvus*, *C. concisus*, *C. showae*, *C. gracilis* ve *C. mucosalis*. Bu türlerin diğer ortak özelliklerinin ikisi optimum olarak 37 °C’de üremeleri ve 2-6 günlük sürede daha yavaş üreme hızına sahip olmalarıdır.

C. rectus, *C. curvus*, *C. concisus*, *C. showae*, *C. gracilis*; insanlarda ağız florasında bulunmakta ve biyokimyasal özellikleri birbirine benzer. *C. showae* ikiden beşe kadar kılıfsız unipolar flagellaya sahip olması ile diğer türlerden ayrılırmakta Ayrıca *C. gracilis*, hareketsiz olma özelliği ile diğer birçok türden ayrılmaktadır (39, 66).

Sağlıklı bireylerin oral florası dışında periodontitli olgularda da saptanan *C. gracilis*’in periodontal hastalıklarla ilişkili olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmakla birlikte *C. rectus* periodontal hastalıklara neden olan başlıca türdür (48).

Helicobacter pylori ve *Campylobacter* türleri ile enflamatuvar bağırsak hastalığı arasındaki ilişkinin araştırıldığı ve *C. concisus*’la yüksek oranda ilişkinin saptandığı bir metaanaliz çalışmasında *C. showae*’nin IBD açısından risk oluşturduğu vurgulanmıştır (45).

Bu türler arasında son yıllarda önem kazanmakta olan *C. concisus* oral flora dışında gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve enflamatuvar bağırsak hastalıkları ile olan ilişkisi ile öne çıkmaktadır. İnsanlarda gastroenteritli hastaların dışkıında yüksek oranda izole edildiğini ve hastalıkla ilişkili olduğunu öne süren birçok çalışma

bulunmaktadır. İshalli hasta dışkılarında *C. jejuni/coli* dışındaki diğer türlerin araştırıldığı bir çalışmada *C. upsaliensis*'ten sonra ikinci en sık tür (78), benzer şekilde ishallerde çocuk hastalarda *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Helicobacter* varlığının araştırıldığı bir diğer çalışmada *C. jejuni*'den sonra ikinci en sık *Campylobacter* türü olarak izole edilmiştir (42). Ayrıca Chron hastalığı, ülseratif kolit, Barrett özofagus, artirit, beyin apsesi gibi birçok gastrointestinal sistem ve gastrointestinal sistem dışı enfeksiyonu ile ilişkisini saptayan çalışmalar mevcuttur (13, 61, 81).



Tablo 2-1: *Campylobacter* türlerinin bazı fenotipik ve biyokimyasal özellikleri (39, 21, 66).

Mikroorganizma	Katalaz	Nitrat	Pirazi- namidaz	Hippurat	H ₂ S üretimi (TSI)	Lead asetat strip	25°C üreme	42°C üreme	İndoksil Asetat	Hidrojen gereksi- nimi	Üreaz	Mac Conkey	%1 Glisin	Nalidiksik asit	Sefalotin
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	V	+	V	R
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	V	-	+	V	-	-	-	V	+	-	-	-	+	S	S*
<i>Campylobacter coli</i>	+	+	+	-	V	+	-	+	+	-	-	+	+	V	R
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	+	-	-	-	+	+	V	-	-	-	+	+	V	S
<i>C. upsaliensis</i>	V	+	+	-	-	V	-	V	+	-	-	-	V	S	S
<i>C. lari</i>	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	V	+	+	R	R
<i>C. hyointestinalis</i>	+	+	-	-	+	+	V	+	-	-	-	V	V	R	S
<i>C. sputorum</i>	V	+	V	-	+	+	-	+	-	V	- b	V	+	V	S
<i>C. helveticus</i>	-	+	NA	-	-	NA	-	+	+	-	-	-	V	S	S
<i>C. concisus</i>	-	+	+	-	V	+	-	V	- *	+	-	V	V	R*	V
<i>C. mucosalis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	-	+	-	+	V	V	S
<i>C. curvus</i>	-	+	+	V	+	+	-	V	V	+	-	V	+	V	S
<i>C. rectus</i>	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	V	S
<i>C. showae</i>	+	+	ND	-	+	ND	-	V	V	+	-	+	V	V	S
<i>C. gracilis</i>	-	+	ND	-	-	ND	-	V	V	+	-	V	+	V	V
<i>C. hominis</i>	-	NA	NA	-	-	NA	-	NA	-	+ a	ND	NA	+	NA	NA
<i>C. ureolyticus</i>	V	NA	NA	-	-	NA	-	NA	-	+ a	+	NA	+	NA	NA

a: Anaerobik üreme koşullarında, b: *C. sputorum* bv. *paraureolyticus* hariç, TSI: Üç şekerli demirli besiyeri, V: Değişken, ND: Belirlenemedi, NA: Mevcut değil, H*: Çoğu tür hassas, D*: Çoğu tür dirençli

C. mucosalis, domuzların bağırsağında bulunmaktadır. Gastroenteritli çocukların dışkılarından izole edildiği bildirilen ilk *C. mucosalis* suşlarının daha sonra yapılan moleküler testlerle *C. concisus* olduğu anlaşılmıştır. Bu iki türün yalnızca biyokimyasal testlerle ayırımı güçtür ve kesin tanımlanmaları için moleküler yöntemlerin kullanılması önerilmektedir (66). Günümüze dek domuz dışında insan ve köpek dışkısından izolasyonunu bildiren az sayıda çalışma da mevcuttur (15, 54).

2.5.CAMPYLOBACTER ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ

Campylobacteriosis insidansı ve prevalansı, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde son on yılda artmıştır. Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'daki belirgin artışa dikkat çekilmektedir. Afrika, Asya ve Orta Doğu'da özellikle çocuklarda Campylobacteriosisin endemik olduğu, en sık etken olan *C. jejuni*'ye ek olarak, *C. concisus* ve *C. ureolyticus* gibi yeni ortaya çıkan *Campylobacter* türlerinin de klinik öneminin giderek arttığı bildirilmektedir (33, 54). Tüm bu verilere rağmen *Campylobacter* enfeksiyonlarının gerçek sıklığı bilinmemektedir. Gelişmiş ülkelerde göreceli olarak gerçeğe yakın verilere ulaşılabilmekle birlikte hastalık bildirimleri genel olarak düzenli ve sağlıklı bir şekilde yapılmamakta özellikle gelişmekte olan ülkelerde sonuçların takip edildiği standart sürveyans programları ya da ağırları bulunmamaktadır (59).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC)'nin verilerine göre *Campylobacter*, 2005'ten bu yana Avrupa ülkelerinde insanda en sık bildirilen gastrointestinal bakteriyel patojendir. EFSA ve ECDC'nin raporuna göre 2017 yılında 37 Avrupa ülkesinde insanda görülen doğrulanmış olgu sayısı 246,158'dir (salmonelloz olguları ise 91,662 doğrulanmış olgu ile ikinci sırada yer almaktadır). Yine aynı raporda *Campylobacter* enfeksiyonuna bağlı 20,810 hastaneye yatış ve 45 ölüm bildirilmiştir (20).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıda Kaynaklı Hastalıklar Sürveyans Ağı (FoodNet) kapsamında yayımlanan 2015 yılı sürveyans raporunda, 20.098 laboratuvar tarafından doğrulanmış *Campylobacter* olgusu, bu enfeksiyonlara bağlı 4.598 hastaneye yatış ve 77 ölüm bildirilmiştir. FoodNet tarafından *Campylobacter* için bildirilen enfeksiyon ve insidans oranı her 100.000 kişide sırasıyla 6,289 ve 12,82'dir (12).

Campylobacter salgınlara da neden olmakta ve salgınlarında kanatlı hayvan ürünlerinin tüketimi veya suyun en yaygın kaynaklar olduğu bildirilmektedir. 1992 ile 2009 yılları arasında Birleşik Krallık'ta 143 salgın bildirilmiştir. Bunların 114'ü kontamine besin veya su, ikisi hayvanla temas ve 22'si bilinmeyen bir bulaşma şekline kaynaklanmıştır. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerinin kayıtlarına göre 1999 ve 2008 yılları arasında ABD'de 4,936 *Campylobacter* salgını gerçekleşmiştir (33).

Tahmini epidemiyolojik veriler *Campylobacter* türlerinin gastroenteritteki klinik önemini gösterse de, rutin tanı laboratuvarlarında kullanılan yöntemler daha çok *C. jejuni* ve *C. coli*'ye yönelik olduğundan, bu yöntemlerin kullanılması ile yavaş üreyen ve yeni ortaya çıkan türlerin tanısı desteklenmemektedir (21, 42).

Günümüzde gastroenteritlerin etiyojisi hakkında en az bilinenler kadar bilinmeyenlerin de olduğu söylenebilir (75). Örneğin, Birleşik Krallıkta 1996-2000 yılları arasında bildirilen 1,7 milyon gıda kaynaklı olgunun %49'unun ve Avustralya'da yıllık bildirilen 41,000 gastroenteritin %68'inin etiyojisinin bilinmediği bildirilmiştir. Etiyojisi bilinmeyen gastroenteritlerin oranının yüksekliği ve *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki diğer türlerin izolasyonuna ilişkin Avrupa, ABD ve Afrika'da yapılan epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar araştırmacıları *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin gastroenteritlerdeki rolü üzerine çalışmaya yöneltmiştir (32, 40, 54, 78).

Avrupa, Amerika ve Asya'da yapılan epidemiyolojik sürveyans çalışmaları *C. concisus*, *C. ureolyticus* ve *C. upsaliensis* türlerinin gastroenterite neden olan diğer *Campylobacter* türleri arasında yüksek prevalansa sahip olduğunu göstermiştir. Güney Afrika'da 19,535 ishali çocuk dışkı ile yapılan bir çalışmada tüm olguların %5'inde *C. concisus*, yaklaşık olarak aynı oranda %4,9 *C. upsaliensis* izole edilmiştir. Her iki türün prevalansı *C. jejuni* subsp. *jejuni*'ninkinden çok az (%6) düşük bulunmuştur (40). Belçika'da 42,287 ishali hasta ile çalışılan başka bir çalışmada *C. upsaliensis* en sık, *C. concisus* da onu takip etmektedir ve oranlar sırasıyla %39, %12,3 olarak bulunmuştur (78). Bullman ve ark. (7), ishali hastalarda *C. ureolyticus*'u *C. jejuni*'den sonra ikinci sıklıkta (%24.4) saptamışlar ve daha az oranda diğer türleri (*C. fetus*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* ve *C. lari*) de bildirmişlerdir.

C. fetus enfeksiyonları göreceli olarak daha nadir görülmektedir; ABD'de yılda bildirilen olgu sayısı 250'den azdır. *C. jejuni*'den farklı olarak, *C. fetus* enfeksiyonları primer olarak bağışıklık yetmezliği olan veya yaşlı kişilerde görülmektedir (59).

Campylobacter enfeksiyonları yıl boyunca sporadik olarak görülen ve yaz aylarında pik yapan enfeksiyonlardır. Hastalık en sık bebeklerde ve küçük çocuklarda görülmekte ve 20-40 yaş arası erişkinlerde ikinci bir pik yapmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde hastalığın insidansı daha yüksektir (59). Ayrıca, bu ülkelerde çocukluk çağında görülen enfeksiyonlar şiddetli seyrederken, erişkin yaşlarda geçirilen enfeksiyonlar genellikle daha hafif veya asemptomatik seyretmektedir. Enfeksiyon şiddetinin yaşa bağlı olarak değişkenlik göstermesinin, gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağında sıklıkla *Campylobacter*'e maruz kalınmasına bağlı olarak gelişen spesifik antikorların yaşamın ileriki süreçlerinde kişiyi hastalığa karşı korumasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde mesleki olarak *Campylobacter*'e daha sık maruz kalan kişilerde (örneğin kasaplarda) de hastalığın genellikle asemptomatik seyretmesi konak bağışıklık sisteminin *Campylobacter* enfeksiyonlarındaki rolünün önemini göstermektedir (31, 33).

2.5.1.Rezervuar ve Bulaşma

Campylobacter enfeksiyonları zoonotik enfeksiyonlardır ve çok çeşitli hayvanlar rezervuar rolü oynayabilmektedir (21, 59). *Campylobacter*'ler başta tavuk ve kümes hayvanları gibi kanatlılar olmak üzere, sığır, koyun, keçi ve domuz gibi hayvanların bağırsaklarında kommensal olarak bulunur (2). Köpek, kedi, hamster ve kuşlar vb. evcil hayvanlar da potansiyel birer enfeksiyon kaynağıdır (21).

Kontamine gıda ve su tüketimi veya dışkı materyali ile enfekte olmuş hayvanlarla doğrudan temas yoluyla *Campylobacter* türleri bulaşabilir (21). Gelişmiş ülkelerde *Campylobacter* enfeksiyonlarının yarısından fazlasından kontamine kümes hayvanları sorumludur (59). Genellikle bu bakterileri bağırsaklarında bulunduran hayvanların etlerinin kesim işlemi sırasında bağırsak içerikleri ile kontamine olması ve kontamine etlerin iyi pişirilmeden tüketilmesi sonucunda insana bulaşır ve insanda besin kaynaklı enfeksiyonlara neden olurlar (2, 21).

Kişiden kişiye temasla fekal oral yolla bulaşabilmektedir ancak hastalığın gıda ile uğraşan kişiler tarafından bulaştırılması nadirdir. Mide asidini nötralize eden besin maddeleri (örneğin, süt) enfeksiyöz dozu oldukça düşürür (59).

Hastalığın enfeksiyon dozunun <500 bakteri olduğu bildirilmiştir (43). Aynı dozda *Campylobacter*'e maruz kalan bazı kişilerde hastalık gelişirken, diğer bazılarında asemptomatik enfeksiyon görülmektedir. Bu veriler, hastalık gelişiminde bakteriye ait özelliklerin yanı sıra konağa ait bazı özelliklerin de önemli olduğunu göstermektedir (31).

C. jejuni ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin de et ürünleri, su, süt gibi gıda ve içeceklerden izole edildiği ve çevrenin (deniz suyu, sığır gübresi, vb.) potansiyel bir rezervuar kaynağı olduğu bildirilmektedir (54). *C. upsaliensis* enfeksiyonları primer olarak ev köpekleri (sağlıklı taşıyıcı ya da diyaresi olan hayvanlar) ile temas sonrasında insana bulaşmaktadır (59).

Ağız florasında kommensal olarak bulunabilen *C. concisus*, *C. rectus*, *C. curvus*, *C. gracilis* ve *C. showae* türlerinin rezervuarı çoğunlukla insan nadiren köpek veya kedi (*C. concisus*)' dir (15, 48).

Ayrıca seyahat ve immünyetmezlik de *Campylobacter* enfeksiyonları açısından risk oluşturmaktadır. Homoseksüel erkeklerde diğer atipik *Campylobacter*'lerin neden olduğu enfeksiyon riskinin arttığı, HIV pozitif hastalarda riskin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (2, 21).

2.6.CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR

C. jejuni ve *C. coli* ile birlikte diğer bazı *Campylobacter* türlerinin ('yeni ortaya çıkan' patojenler) de insanlarda gastrointestinal ve bazı gastrointestinal sistem dışı enfeksiyonlarda (Tablo 2-2) rol oynadığı bildirilmektedir.

2.6.1.Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları

Campylobacter türleri başta *C. jejuni* ve *C. coli* olmak üzere insanlarda en sık akut gastroenterite neden olurlar. Genellikle kendi kendini sınırlayan enfeksiyonlardır ve tıbbi tedaviye gerek kalmadan hasta iyileşmektedir (55). Enfeksiyon çoğu kişide 3-7 gün içerisinde sonlanmakla birlikte iki haftadan bir aya kadar iyileşme sürecinde bakteri atılımı devam edebilmektedir (79). *Campylobacter* gastroenteritleri bütün yaş

gruplarında görülebilmekte ancak özellikle 5 yaşın altındaki çocukları daha çok etkilemektedir. Hastalık bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde genellikle ciddi seyretmekte ve ölüm ile sonuçlanabilmektedir (2).

C. jejuni ve *C. coli* dışındaki diğer *Campylobacter*'lerden en az 10 veya daha fazla türün gastroenteritli hastalardan izole edildiği bildirilmiştir. 'Yeni ortaya çıkan' patojenler'den *C. upsaliensis*, *C. ureolyticus* ve *C. concisus* en sık izole edilen türlerdir (6, 13, 39, 42). Gastroenteritli hastalardan *C. curvus*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. insulaenigrae*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. helveticus*, *C. sputorum*, *C. gracilis* ve *C. showae* *C. ureolyticus* gibi diğer türler de sporadik olarak bildirilmektedir (22, 54).

Campylobacter'ler gastrointestinal sistemde ayrıca enflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD), periodontal hastalıklar, özofageal hastalıklar gibi farklı enfeksiyonlara da neden olmaktadır.

IBD, Chron hastalığı ve ülseratif koliti kapsayan gastrointestinal sistemin kronik enflamatuvar hastalığıdır. *C. jejuni* IBD olgularının büyük kısmından sorumlu tutulmakta ve bu hastalığın gelişimi için önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır.

C. concisus, *C. showae*, *C. hominis*, *C. gracilis*, *C. rectus* ve *C. ureolyticus* türleri IBD olgularında saptanmıştır. *C. concisus*'un IBD'li hastalardan en sık izole edilen tür olduğu bildirilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle yapılan çalışmalarda da Chron hastalarının dışkılarında *C. concisus* sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (33, 51, 81). Benzer bir çalışmada Mukopadhy ve ark. (58) ülseratif kolitli hastaların biyopsi örneklerinde sağlıklı kontrollere göre *C. concisus* ve *C. ureolyticus* türlerini yüksek oranda saptamışlar ve *Campylobacter* cinsi pozitiflik oranını anlamlı bulmamakla birlikte bu iki türü ülseratif kolit ile ilişkilendirmişlerdir.

Son yıllarda gastroözofageal reflü ve Barrett's gibi özofageal hastalıklarda mikroorganizmaların varlığını araştıran çalışmalarda başta *C. concisus* olmak üzere *Campylobacter* türlerinin baskın olduğu bildirilmiştir (33). Macfarlen ve ark. (50), Barrett özofaguslu hastalarda çoğunluğu *C. concisus* olmak üzere *C. rectus* türlerini de bildirmiştir. Benzer şekilde Blackett ve ark. (4) *C. concisus*'u Barrett's özofagus ve gastroözofageal reflü hastalıkları ile ilişkilendirmiştir.

2.6.2. Gastrointestinal Sistem Dışı Enfeksiyonlar

Gastrointestinal enfeksiyona ek olarak, *Campylobacter* türleri ayrıca bakteriyemi, sepsis, endokardit ve miyokardit, beyin apsesi ve menenjit, reaktif artrit, Guillain-Barré sendromu, Miller Fisher sendromu ve üreme sisteminde ortaya çıkan komplikasyonlar gibi gastroenterit sonrası lokal ya da sistemik enfeksiyonlar veya enfeksiyon sonrası immün sistem bozukluğu şeklinde vücudun farklı bölgelerinde çeşitli klinik tablolara yol açabilmektedir (2, 33).

En sık görülen bağırsak dışı enfeksiyon bakteriyemidir ve çoğunlukla *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. fetus* etkindir. Daha nadiren *C. lari*, *C. insulaenigrae*, *C. upsaliensis* türleri etken olarak bildirilmektedir. *Campylobacter*'le ilişkili bakteriyemi çoğunlukla karaciğer sirozu veya neoplazi gibi alta yatan hastalığı olan yaşlı veya immün sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir; bu tür hastalarda mortalitenin yüksek olduğu ve hastaların %10-15'in tanı konduktan sonra 30 gün içinde öldüğü bildirilmiştir (33, 54). *C. upsaliensis*, ve biyokimyasal olarak *C. fetus*'e benzeyen *C. hyointestinalis*'in immünkompromize hastalarda bakteriyemiye yol açtığı, benzer şekilde *C. curvus*'un septisemiye neden olduğu olgular bulunmaktadır (2, 54).

Campylobacter enfeksiyonu sonrası, hastalarda birkaç gün veya birkaç hafta içinde Guillan Barré Sendromu (GBS), GBS'nin nadir rastlanan bir klinik varyantı olan Miller Fisher sendromu veya reaktif artrit gibi bazı nörolojik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu komplikasyonların mevcut olduğu hastalarda en sık *C. jejuni* enfeksiyonu tanımlanmakta, *C. coli* türlerinin de neden olduğu enfeksiyonlar bildirilmektedir. GBS, yaklaşık olarak *C. jejuni* enfeksiyonu tanısı almış 2000 hastanın birinde görülmektedir; bu enfeksiyon ile ilişkili spesifik serotip *C. jejuni* serotip O:19'dur (2, 23, 33).

Menenjit ve ayrıca endokardit, miyokardit, perikardit gibi çeşitli kardiyovasküler komplikasyonlar *Campylobacter* enfeksiyonları sonrasında nadiren bildirilmekle birlikte yine en sık *C. jejuni* ve *C. fetus* subsp. *fetus* etken olarak saptanmaktadır (2, 33).

C. jejuni, *C. coli*, *C. fetus* subsp. *fetus* ve *C. upsaliensis*'in insan ve hayvanlarda septik abortus ve yenidoğan sepsisine neden olduğu gösterilmiştir. Bu türler, genellikle sepsis ile sonuçlanan agresif bir bağırsak enfeksiyonunun ardından gebe kadınlarda

fetüse bulaşarak abortusa neden olmaktadır. Diğer *Campylobacter* türlerinden *C. curvus* da gebe kadınlarda erken doğum ile ilişkilendirilmiştir (33).

C. jejuni ve *C. coli* dışındaki diğer türlerin insanlarda çeşitli organlarda apse oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir. *C. upsaliensis* göğüs apsesi, *C. rectus* oral ve vertebral apse, *C. curvus* alveolar apse, karaciğer apsesi ve bronşiyal apse, *C. concisus* ve *C. gracilis* beyin apsesi ve tubo-ovarian apse, *C. showae* intraorbital apse, *C. ureolyticus* oral-perianal ve yumuşak doku apsesi ve *C. sputorum* aksiller apsede saptanmıştır (33, 48).

C. consisus, *C. gracilis*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum* ve *C. ureolyticus* gibi *Campylobacter* türleri insanlarda ağız florasında da kolonize olabilmektedir (54). *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. showae* ve *C. concisus* potansiyel oral patojenler olarak tanımlanmakta ve yapılan çalışmalarda *C. rectus*'un periodontal enfeksiyonlarda etken olan en önemli tür olduğu bildirilmektedir (33, 79). *C. curvus*, *C. sputorum* ve *C. ureolyticus* türlerinin periodontal hastalıkla bağlantılı olup olmadıkları henüz netleşmiş değildir (33).

Tablo 2-2: *C. jejuni/coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin izole edildiği kaynaklar (54, 48, 15).

Mikroorganizma	İzole edildiği kaynak	İnsan hastalıklarındaki klinik önemi*	Hayvan hastalıklarındaki klinik önemi*
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Sığır, koyun, insan	Gastroenterit, bakteriyemi, selülit, nörolojik enfeksiyonlar (menenjit, meningoensefalit, subdural ampiyem, beyin apsesi), perinatal enfeksiyonlar (uterus enfeksiyonu, abortus, plasentit), vasküler enfeksiyonlar (endokardit, vaskülit, tromboflebit, perikardit)	Spontan düşük
<i>C. fetus</i> subsp. <i>veneralis</i>	Sığır, insan	Vajinozis	Kısırlık ve düşük
<i>C. fetus</i> subsp. <i>testidium</i>	Sürüngenler, insan, maymun	Bakteriyemi, subdural hematoma, lösemi	Henüz bildirilmedi
<i>C. upsaliensis</i>	Kedi, köpek, insan	Gastroenterit, bakteriyemi, düşük, göğüs apsisi	Henüz bildirilmedi
<i>C. lari</i>	Kabuklu deniz ürünleri, insan	Gastroenterit, bakteriyemi	Henüz bildirilmedi
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Domuz, sığır, insan, geyik, ren geyiği, koyun, hemstir, köpek	Gastroenterit, bakteriyemi	Proliferatif ileit (domuz)
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Domuz, sığır, insan	Henüz bildirilmedi	Henüz bildirilmedi
<i>C. sputorum</i>	Sığır, koyun, insan, domuz, köpek	Gastroenterit, bakteriyemi, aksiller apse	Diyare (köpek), düşük (koyun)
<i>C. concisus</i>	Kedi, köpek, insan	Gastroenterit, Chron hastalığı, ülseratif kolit, Barrett özofagus, artirit, beyin apsisi, periyodontal hastalık	Henüz bildirilmedi
<i>C. mucosalis</i>	Köpek, domuz, insan	Gastroenterit	Diyare (köpek)
<i>C. helveticus</i>	Köpek, kedi, insan	Henüz bildirilmedi	Diyare
<i>C. curvus</i>	Köpek, insan	Gastroenterit, alveolar apse, bronşiyal apse, karaciğer apse, septisemi, erken doğum, thoraks ampiyem, erken doğum	Henüz bildirilmedi
<i>C. rectus</i>	Köpek, insan	Gastroenterit, periodontal hastalık, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, bakteriyemi, oral apse, vertebral apse, ölümcül thoraks ampiyem	Henüz bildirilmedi
<i>C. showae</i>	Köpek, insan	Crohn hastalığı, ülseratif kolit, intraorbital apse	Diyare
<i>C. gracilis</i>	Köpek, insan	Periyodontal hastalık (potansiyel patojen), Crohn hastalığı, ülseratif kolit, baş ve boyun enfeksiyonu, beyin apsisi, tobo-ovarian apse	Henüz bildirilmedi
<i>C. hominis</i>	İnsan	Septisemi, Crohn hastalığı, ülseratif kolit,	Henüz bildirilmedi
<i>C. ureolyticus</i>	Sığır, at, insan	Gastroenterit, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, oral -perianal ve yumuşak doku apsisi, yumuşak doku veya kemik enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu, ülser, artirit	Henüz bildirilmedi

Tablo 2-2: *C. jejuni/coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin izole edildiği kaynaklar (54, 48, 15) (Devamı).

Mikroorganizma	İzole edildiği kaynak	İnsan hastalıklarındaki klinik önemi*	Hayvan hastalıklarındaki klinik önemi*
<i>C. insulaenigrae</i>	İnsan, yüzgeçayaklılar, balinalar	Gastroenterit, sepsisemi	Henüz bildirilmedi
<i>C. lanienae</i>	Sığır, domuz, koyun, insan	Henüz bildirilmedi	Henüz bildirilmedi
<i>C. troglodytis</i>	Şempaze, insan	Henüz bildirilmedi	Henüz bildirilmedi

*İnsan ve hayvan hastalıklarından izole edilmiş veya hastalıklarla ilişkilendirilmiş.

2.7.CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE TANISI

Campylobacter enfeksiyonlarının tanısı genellikle dışkı, kan veya diğer klinik örneklerden bakterinin izolasyonu ile yapılmaktadır. Üreyebilmeleri için özel koşullara ihtiyaç duyan nazlı bir bakteri olması sebebi ile izolasyonunda zorluklar yaşanabilmektedir. Bununla birlikte bakteri izole edildiğinde cins düzeyinde tanısı, üreme özellikleri, mikroskopik morfolojisi ve birkaç biyokimyasal özelliği ile kolaylıkla yapılabilmektedir. Ancak *Campylobacter* cinsinin hızla gelişmekte olan bir taksonomiye ve kompleks biyokimyasal yapıya sahip olması tür düzeyinde tanısını zorlaştırmaktadır. Bu sorunlar fenotipik ve moleküler genotipik yöntemlerin geliştirilmesine ve yaygınlaşmasına yol açmıştır (22).

2.7.1.Örneklerin Taşınması ve Saklanması

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında *Campylobacter*'lerin tanısı için akut dönemdeki ishaller hastaların 1-2 saati aşmayan taze dışkı örneği tercih edilmektedir. Örneğin antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınması ve 2 saat içinde işleme alınamayan örnekler için modifiye Cary-blair transport besiyerinin kullanılması önerilmektedir. Transport besiyerinin gönderilmesinde bir gecikme olması durumunda ise buzdolabında 4 °C'de saklanması uygun olduğu belirtilmektedir (17, 22, 23).

2.7.2.Örneklerin Direkt İncelenmesi

2.7.2.1.Mikroskopi

Örneklerin doğrudan mikroskopik olarak incelenmesi yapılabilir. Ancak mikroskopi nadiren uygulanır ve belli olgularda yararlı olabilir. Mikroskopik inceleme

için akut dönemdeki hastaların ishalleri dışkı örnekleri Gram yöntemi ile boyandığında, preparatlarda tipik morfolojiye sahip *Campylobacter*'ler görülebilir (17). Karakteristik morfoloji ve hareket için karanlık alan ve faz kontrast mikroskopları da kullanılabilir (21, 22). Çok taze dışkıların (< 30 dakika önce alınmış) lam-lamel arası preparatlarında zigzag tarzında, mikroskop alanı boyunca ok gibi fırlayan hareketli *Campylobacter*'ler aranabilir (17). Dışkı örneğinin metilen mavisi ile boyanması ile de lökosit varlığı incelenmekte ve invaziv enfeksiyon olasılığı değerlendirilmektedir.

2.7.2.2.Direkt antijen saptanması

Campylobacter enfeksiyonlarının tanısı için kültürden bağımsız, enzim immunoassay (EIA) testleri kullanılarak taze dışkı örneğinde *Campylobacter* antijeni saptanabilir. Bu amaçla kullanılan farklı ticari kitler (The Premier CAMPY [Meridian Biosciences], the ImmunoCard STAT! CAMPY [Meridian Biosciences], the ProSpecT *Campylobacter* Microplate Assay [Remel], vb.) mevcuttur. *C. jejuni* ve *C. coli*'ye yönelik olarak geliştirilen bu kitlerin her biri *Campylobacter* yüzey antijenlerini baz almakta ancak iki türün birbirinden ayrımını sağlayamamaktadır. Ayrıca *C. upsaliensis* türü ile de çapraz reaksiyon verdikleri bildirilmektedir. Kültürden daha pahalı olmakla birlikte bu yöntemin %89-96 duyarlılık ve %99 özgüllükte olması ve ayrıca 2 saat içerisinde sonuç vermesi avantaj sağlamaktadır (17, 21-23).

2.7.2.3.Direkt nükleik asit saptanması

Nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) de doğrudan dışkı örneklerinden *Campylobacter*'in saptanması için kullanılmaktadır (22, 23).

Campylobacter ve diğer gastrointestinal patojenlerin saptanmasına yönelik FDA onaylı farklı multipleks NAAT panelleri (xTAG gastrointestinal pathogen panel [Luminex, Austin, TX] , GenProbe Prodesse ProGastro panel [Hologic, Bedford, MA], Biofire Filmarray system [BioMerieux, Cambridge, MA], BD MAX system (Becton Dickinson Diagnostics [Sparks, MD]) bulunmaktadır. Kültürle kıyaslandığında daha pahalı olan bu testler hızlı sonuç vermekle birlikte yöntem, izolatin daha ileri incelenmesine olanak tanımamaktadır. Bu panellerin performans özellikleri henüz değerlendirme aşamasındadır (23).

2.7.3. İzolasyon

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında *Campylobacter* türlerinin kültürü için genellikle *C. jejuni* ve *C. coli*'nin izolasyonuna yönelik yöntemler kullanılmaktadır. *C. jejuni*, *C. coli* ve diğer *Campylobacter* türlerinin izolasyonunu sağlayan tek bir kültür yöntemi mevcut değildir (23). İzolasyon amacıyla selektif besiyerleri kullanılır ve ekim yapılan besiyerleri mikroaerobik atmosferde (%5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂), 42 °C'de inkübe edilir (17). 42 °C inkübasyon sıcaklığının kullanılmasının bir nedeni termofilik özellikteki *C. jejuni* ve *C. coli*'nin bu sıcaklıkta optimum üreme göstermesi diğer nedeni ise fekal mikroorganizmaların üremesinin engellenip, *C. jejuni* ve *C. coli*'nin üremesinin desteklenerek seçici ortam sağlanmasıdır. *C. upsaliensis* 42 °C'de üreyebilmesine rağmen selektif besiyeri kullanıldığında izole edilememektedir. *C. fetus* bu sıcaklıkta değişken özellik gösterdiğinden üremeyebilir (21). Termofilik olanlar dışındaki diğer *Campylobacter* türleri genellikle 37 °C'de ürerler (2, 19).

Mikroaerobik koşulların sağlanması için çeşitli ticari gaz sistemleri mevcuttur. Bu sistemler içinde, mikroaerofilik gaz üreten ve bir kere kullanılıp atılan paketler (BBL Campy Pak, Oxoid CampyGen, Mitsubishi Pack-Campylo vb.) rutin laboratuvarlarda sıklıkla kullanılmaktadır. İstenilen içerikte atmosfer sağlayan otomatik cihazlar (örn.; Anoxomat) da bulunmaktadır (17, 21).

C. sputorum, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. curvus*, *C. rectus* ve *C. hyointestinalis* gibi bazı *Campylobacter* türlerinin üremesi için hidrojen bakımından zenginleştirilmiş mikroaerobik atmosfer gerekmektedir. Genellikle mikroaerofilik gaz üreten ticari paketlerin içerdiği <%2 hidrojen miktarı bu türlerin üremesini desteklememektedir (21). İhtiyaç duyulan hidrojen miktarı %3- %7'dir (54). Hidrojen bakımından zenginleştirilmiş atmosfer *C. jejuni* ve *C. coli*'nin izolasyonu için gerekli olmamakla birlikte bu türlerin üremesini de teşvik edici özelliğe sahiptir (19).

Campylobacter izolasyonunda kullanılan çeşitli besiyerleri mevcuttur. Kansız besiyerleri arasında kömürlü-sefoperazon-deoksikolat agar (CCDA) ve kömürlü selektif besiyeri (CSM); kanlı besiyerleri arasında sefoperazon, vankomisin, amfoterisin B içeren %5 koyun kanlı brusella agar (Campy-CVA), Skirrow ve Butzler besiyeri bulunmaktadır (17, 21).

Campylobacter kültürü için selektif besiyeri kullanımının bazı dezavantajları bulunmaktadır. Selektif besiyerlerine eklenen antibiyotikler, duyarlı bazı *Campylobacter* türlerinin üremesini inhibe etmektedir. Örneğin sefalotine duyarlı *C. fetus ssp. fetus*, *C. jejuni ssp. doylei*, *C. upsaliensis* ve *C. consisus* sefalosporin grubu antibiyotiklerin bulunduğu besiyerlerinde üreyemez (17, 21-23).

İmmün sistemi yetersiz hastalar ve gelişmekte olan ülkelerdeki çocuk hastalarda *Campylobacter* izolasyonu için selektif olmayan besiyeri ve filtrasyon tekniğinin birlikte kullanıldığı kültür yöntemleri önerilmektedir (79).

2.7.3.1.Zenginleştirme yöntemi

Zenginleştirme besiyerlerinin kullanımının *Campylobacter*'lerin izolasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Özellikle ishalin akut döneminden sonra veya örneğin laboratuvara gecikmeli ulaştığı durumlarda zenginleştirme yönteminin kullanılması önerilmektedir. Zenginleştirme sıvı besiyerleri olarak Preston zenginleştirme, *Campylobacter* zenginleştirme sıvısı ve Campy-thio gibi besiyerleri kullanılabilir. 42 °C'de bir gece inkübe edilen sıvı besiyerlerinden selektif besiyerine subkültür yapılmaktadır (17, 21-23).

2.7.3.2.Filtrasyon yöntemi

Campylobacter türlerinin izolasyonunda kullanılabilen bir diğer yöntem 1984'te Steele ve McDermott tarafından geliştirilen filtrasyon yöntemidir. Bu yöntemin temeli *Campylobacter*'lerin 0.45-µm filtrelerden geçebilmesi ve daha büyük boyuttaki diğer bakterilerin filtrede tutulması esasına dayanmakta olup yöntemde besiyeri olarak antibiyotik içermeyen kanlı besiyeri kullanılır. Böylelikle antibiyotiklere duyarlı *Campylobacter* türlerinin üremesine de olanak sağlanmış olur (17, 21-23).

Çeşitli çalışmalarda *C. jejuni/coli* ve diğer *Campylobacter* türlerin izolasyonu için filtrasyon tekniği kullanılmış ve bazı araştırmacılar tarafından özellikle *C. jejuni/coli* dışındaki diğer türlerin üremesini destekleyen yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerden biri Cape Town protokolüdür. Bu protokole göre dışkı örneği kan içermeyen besiyerleri kullanılarak filtreden geçirildikten sonra, besiyerleri 37 °C sıcaklıkta ve özellikle hidrojen gereksinimi duyan türlere yönelik (%3-7 hidrojen)

mikroaerobik ortamda en az 96 saat veya daha fazla süre (6 gün) ile inkübasyona bırakılmaktadır (12, 42, 54).

2.7.4.Campylobacter Türlerinin İdentifikasyonu

Kültürde üreyen koloniler öncelikle makroskobik olarak incelenmektedir. Şeffaf, pembemsi veya grimsi, parlak ve bazen su damlası görünümünde koloni oluşturan olası *Campylobacter* suşlarının cins ve tür düzeyinde identifikasyonunda çeşitli biyokimyasal testler ve moleküler yöntemlerden yararlanılmaktadır.

2.7.4.1.Fenotipik ve biyokimyasal identifikasyon

Campylobacter'in cins düzeyinde tanımlanmasında bakterinin üreme özellikleri, oksidaz, katalaz özellikleri ve tipik gram morfolojisinden yararlanılır. Rutin laboratuvarlarda mikroaerofilik ortamda, 42 °C'de üreyen oksidaz ve katalaz pozitif saptanan ve mikroskobik olarak karakteristik martı kanadı veya s şeklinde kıvrık görümlü gram negatif bakteriler *Campylobacter* cinsi olarak değerlendirilir. Daha sonra hippurat hidrolizi deneyi yapılarak hippurat hidrolizi pozitif bulunan bakteri *C. jejuni* olarak tanımlanır (17).

Campylobacter'in cins düzeyinde identifikasyonunda L-alanin aminopeptidaz testinden de yararlanılmaktadır. *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Arcobacter* türleri ile negatif sonuç alınan bu test ile diğer Gram negatif bakteriler (L-alanin aminopeptidaz pozitif) ve Gram pozitif bakterilerden (L-alanin aminopeptidaz negatif) ayırım sağlanabilmektedir (42).

Termofilik *Campylobacter*'ler dışındaki diğer *Campylobacter*'lerin identifikasyonu için ise rutin laboratuvarların aksine 37 °C sıcaklık ve hidrojen zengin mikroaerofilik atmosferin kullanılması ayrıca rutin olarak uygulanması zor olan çok sayıda biyokimyasal özelliğin incelenmesi gerekmektedir (Tablo 2-1) (21, 42).

2.7.4.2.Moleküler identifikasyon

Campylobacter türlerinin çoğunun konvansiyonel biyokimyasal yöntemlerle tanımlanmasının zor olması ve her zaman güvenilir sonuçlar elde edilememesi nedeniyle *Campylobacter* identifikasyonunda moleküler yöntemlerin önemi artmıştır (21). Bu amaçla cins ve tür düzeyinde tanıya götüren PCR, DNA-DNA hibridizasyonu,

DNA profillemesi ve Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi gibi birçok moleküler yöntem geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemler genellikle iş gücü ve maliyetlerinin yüksek olması sebebiyle çoğu tanı laboratuvarında kullanılmamaktadır (79).

Campylobacter'lerin moleküler identifikasyonunda cins ve türe yönelik 16S ve 23S rRNA genlerine dayalı PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Ondan fazla sayıda *Campylobacter* türünün tanımlanmasına olanak sağlayan PCR yöntemleri dışında 16S veya 23S rRNA genlerine spesifik RFLP gibi geniş aralıklı moleküler analiz yöntemleri de bulunmaktadır.

Tür düzeyinde PCR analizlerinde *gyrA*, *glyA*, *ceuE*, *asp*, *lpxA* ve genleri gibi farklı türlerin tanımlanması amacıyla birçok farklı gen hedefinin kullanıldığı protokoller mevcuttur Fenotipik olarak hippurat negatif, zayıf pozitif veya yalancı pozitif *C. jejuni* suşlarının ayırımında fenotipik testler yeterli olmamaktadır (21). Hippurat negatif *C. jejuni* suşlarının izole edildiği bilinmektedir (79). *C. jejuni* ve *C. coli* diğer biyokimyasal özellikler bakımından benzerlik gösterdiğinden hippurikaz geninin (*hipO*) belirleneceği moleküler testlerin çalışılması önerilmektedir (21).

C. fetus ve *C. jejuni* türlerinin alt türlerinin tanımlanmasına yönelik PCR da tarif edilmiştir. önem kazanan *Campylobacter* türlerine yönelik yapılan birçok moleküler çalışma bulunmaktadır (6, 13, 53, 61, 67).

16S rRNA gen sekansı karşılaştırması *Campylobacter*'in taksonomik olarak yakın ilişkili olduğu *Arcobacter* ve *Helicobacter*'den ayırımında yararlı olmakla birlikte, 16S rRNA'ya dayalı tür düzeyinde tanımlama, özellikle *C. jejuni* ve *C. coli* gibi yaygın *Campylobacter* türleri için zordur.

C. jejuni, *C. coli* ve *C. lari*; *C. upsaliensis* ve *C. helveticus*; ve *C. fetus*, *C. hyointestinalis* ve *C. lanienae* gibi birbirleriyle $\geq 97\%$ yakın ilişkili türlerin ayırımında 16S rRNA gen sekanslamasının güvenilirliği yüksek değildir (21).

Protein analizine dayalı MALDI-TOF yöntemi de yaygın ve nadir görülen *Campylobacter* türlerini tanımlamada kullanılan ve son yıllarda önem kazanmakta olan bir yöntemdir, *Campylobacter* türlerinde MALDI-TOF tanımlamasının duyarlılığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (21).

Campylobacter türleri ile ilgili epidemiyolojik çalışmalara yön vermek amaçlı son yıllarda pulsied field jel elektroforezi (PFGE), multi-lokus gen sekansı tekniği (MLST), AFLP gibi yüksek düzeyde ayırt edici farklı tiplendirme yöntemleri geliştirilmiştir (21).

2.8.ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK VE TEDAVİ

Campylobacter türleri doğal olarak makrolidler, aminoglikozidler, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi geniş bir antibiyotik grubuna duyarlı olmakla birlikte hepsi trimetoprima dirençlidir. *C. fetus* ve bazı *Campylobacter* türleri beta-laktam antibiyotiklere duyarlı fakat *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* sefalosporinler de dahil olmak üzere çoğu beta-laktam antibiyotiğe dirençlidir.

C. jejuni ve *C. coli* türleri florokinolonlara hızla artan şekilde direnç geliştirmişlerdir ve bu antibiyotiklerin gastroenterit tedavisinde kullanımları sınırlanmıştır. Eritromisin direnci ise daha yavaş ilerlemektedir.

Campylobacter türlerinin neden olduğu akut gastroenterit enfeksiyonları kendi kendini sınırlayan ve genellikle antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyulmayan enfeksiyonlardır. Yüksek risk altındaki yenidoğan ve immün sistemi baskılanmış olgularda ise tedaviye erken başlanması hastalığın süresi ve şiddetini azaltmada etkili olmaktadır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde makrolid veya florokinolonlar tercih edilen antibiyotiklerdir. Bununla birlikte son yıllarda dünya genelinde florokinolon ve makrolidlere dirençli *Campylobacter* suşlarının sayısında artış olduğu ve hayvancılıkta kinolon kullanımının hızla artan direnç gelişimine katkı sağladığı bildirilmektedir (33, 79). Gelişmiş ülkelerde *Campylobacter* türlerinde eritromisine direnç oranı düşük olmakla birlikte gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir (79).

Campylobacter enfeksiyonlarında antibiyotik direnci ile ilgili bir başka sorun ise çok ilaca dirençli (MDR) suşların ortaya çıkmasıdır. İnsanlardan izole edilen MDR suşlarının oranı göreceli olarak düşüktür (%25) ancak hayvanlarda bu suşların artması insanlarda görülen enfeksiyonlara ilişkin endişeleri de arttırmaktadır (33).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.HASTA VE KONTROL GRUBU

Çalışmaya Aralık 2016- Ocak 2018 tarihleri arasında akut gastroenterit ön tanısıyla İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen, sulu ya da yumuşak özellikli dışkı örneği veren 500 hastaya ait dışkı örneği dâhil edilmiştir. Çalışmada her bir hastaya ait tek örnek incelenmiştir. Hastalara gönüllü bilgilendirme formu (Ek-1) ile bilgi verilmiş ve katılmayı kabul eden hastalara ait örnekler çalışmaya alınmıştır. Ayrıca gönüllü 100 sağlıklı bireyin dışkısı kontrol olarak kullanılmıştır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından (1383/10.07.2015) onaylanmıştır.

3.2.GEREÇLER

3.2.1.İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar

3.2.1.1.Besiyerleri

Triptoz kanlı agar (TBA) (CM0233; Oxoid, İngiltere)

Triptoz	10 g
Sodyum klorit	5 g
Agar	12 g
Lab-Lemco Powder	3 g

Hazır besiyerinden 30 g tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürülmüş ve pH değeri $7,2\pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. 121°C 'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra besiyeri oda ısısında 50°C 'ye kadar soğutulmaya bırakılmış ve üzerine %10 olacak şekilde steril koyun ya da at kanı ilave edilmiştir. Sonrasında steril petrilere dökülmüş ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Modifiye karkoal sefoperazon deoksikolat agar (mCCDA) (CM739; Oxoid, İngiltere)

Nutrient Buyyonu No: 2	25 g
Bakteriyolojik karkoal	4 g
Kazein hidrolizat	3 g

Sodyum deoksikolat	1 g
Demir sülfat	0,25 g
Sodyum pirüvat	0,25 g
Agar	12 g

Hazır toz halindeki besiyerinden 45,5 g tartılmış ve 1 litre distile su içerisinde çözündürülerek pH değeri $7,4\pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. 121 °C'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra besiyeri oda ısısında 50 °C'ye kadar soğutulmaya bırakılmıştır.

- C.A.T. Supplement içeriği (SR0174; Oxoid, İngiltere)

Sefoperazon	8 mg/L
Amfoterisin	10 mg/L
Teikoplanin	4 mg/L

2 vial C.A.T. selektif supplementi 50 °C'ye kadar soğutulan 1 litre mCCDA besiyerine ilave edilmiş ve sonrasında bu karışım steril petri kutularına dökülmüştür. Besiyerleri + 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Butzler selektif besiyeri

- Kolombiya kanlı besiyeri (CM0331; Oxoid- İngiltere)

Pepton	23 g
Nişasta	1 g
Sodyum Klorür	5 g
Agar	10 g

Hazır Kolombiya besiyerinden 39 g tartılmış ve 1 litre distile su içerisinde çözündürülerek pH değeri $7,3\pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. 121 °C'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra besiyeri oda ısısında 50 °C'ye kadar soğutulmaya bırakılmıştır.

- *Campylobacter* selektif supplementi (Butzler) (SR0085; Oxoid, İngiltere)

Basitrasin	12,500 IU
------------	-----------

Sikloheksimid	25,0 mg
Kolistin sülfat	5,000 IU
Sefazolin sodyum	7,5 mg
Novobiosin	2,5 mg

- *Campylobacter* zenginleştirme supplementi (SR0232; Oxoid, İngiltere)

Sodyum piruvat	0,125 g
Sodyum metabisülfid	0,125 g
Demir sülfat	0,125 g
Su	2,0 ml

50 °C'ye kadar soğutulan 1 litre Kolombiya besiyerine her birinden 2 vial olmak üzere *Campylobacter* Butzler selektif supplementi ile *Campylobacter* zenginleştirme supplementi ve ayrıca 50 ml koyun kanı ilave edilmiş ve steril petrilere dökülmüştür. Besiyerleri +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

%20 Gliserol içeren saklama besiyeri

- Brusella Buyyonu (211088; Becton Dickinson, ABD)

Tripton	10 gr
Pepton	10 gr
Dekstroz	1 gr
Maya özeti	2 gr
Sodyum klorür	5 gr
Sodyum bisülfid	0,1 gr

Hazır toz halindeki besiyerinden 28 gr tartılarak 800 ml distile suda çözdürülmüş ve üzerine 200 ml gliserol ilave edilmiştir. Besiyeri 121 °C'de 1 atm. basınç altında otoklavda 15 dakika steril edildikten sonra 1,5 ml'lik ependorf tüplerine dağıtılmıştır.

Üreaz besiyeri (211795; Becton Dickinson, ABD)

Pankreatik jelatin özeti	1,0 g
--------------------------	-------

Dekstroz	1,0 g
Sodyum klorid	5,0 g
Potasyum fosfat	2,0 g
Üre	20,0 g
Fenol kırmızısı	0,012 g

Agar besiyerinden 15 g tartılarak 900 ml distile suda çözündürülmüş ve pH $6.8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra besiyeri oda ısısında $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye kadar soğutulmaya bırakılmış ve üzerine 100 ml distile suda çözündürülen 29 g üre, filtre edilerek eklenmiştir. Sonrasında steril tüplere 4'er ml bölüştürülerek eğik olarak katılması sağlanmıştır.

Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) (1046; Conda Lab, İspanya)

Pepton (et ve kazein)	20,0 g
Laktoz monohidrat	10,0 g
Sukroz	10,0 g
Sodyum klorit	5,0 g
Et ekstraktı	3,0 g
Maya ekstraktı	3,0 g
Glukoz monohidrat	1,0 g
Demir amonyum sitrat	0,3 g
Sodyum tiosülfat	0,3 g
Fenol kırmızısı	0,025 g
Bakteriyolojik agar	12,0 g

Hazır besiyerinden 64,6 g tartılarak 1 litre distile su içerisinde çözündürülmüş ve pH değeri $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Besiyeri steril tüplere 4'er ml dağıtılmıştır. $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra tüpler oda ısısında yarı eğik bir şekilde katılmaya bırakılmıştır.

%1 Glisin içeren besiyeri

10 g glisin (G7126; Sigma, Almanya) 100 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Önceden hazırlanmış 900 ml triptoz kanlı agar (TBA) besiyeri içerisine filtre ile süzülerek eklenmiş ve steril petrilere dağıtılmıştır (73).

Pirazinamidaz hidroliz testi besiyeri (Yarı-katı)

Müller-Hinton Buyyonu (CM405; Oxoid, İngiltere) 11,00 g

Bakto-Agar (0140-01; Becton Dickinson, ABD) 1,75 g

Pirazinamid (P7136; Sigma, Almanya) 0,10 g

Hazır besiyerlerinden belirtilen miktarlarda tartılarak 500 ml distile su içerisine eklenmiş ve pirazinamid maddesinin çözünmesini sağlamak için karışım mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Sonrasında 4'er ml steril tüplere dağıtılmıştır. 121 °C'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra soğutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir (73).

Nitrat hidroliz testi besiyeri (72548; Sigma, Almanya)

Pepton 5 g

Et ekstraktı 3 g

Potasyum nitrat 1 g

Hazır besiyerinden 9 g tartılarak 1 L distile su içerisinde karıştırılmıştır. Karışımın pH değeri 7,0±0,2'ye ayarlanmıştır. İçlerine durham tüpleri konmuş steril tüplere 10 mL miktarlarda dağıtılmıştır. 121 °C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Tüpler + 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Peptonlu su

Pepton (RM001; Himedia, Hindistan) 10,0 g

Sodyum klorür 5,0 g

1 L distile su içerisinde pepton ve sodyum klorür çözdürülmüştür. 4 ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılmıştır.

3.2.1.2.Ayıraçlar

Oksidaz ayıracı

%1'lik solüsyon için 0,1 g N,N,N,N-tetrametil-p (RM445; Himedia, Hindistan) 10 ml distile suda çözdürülmüştür. Koyu renkli steril bir şişe içerisinde oda ısısında muhafaza edilmiştir (17).

Katalaz ayıracı

%3'lük hidrojen peroksit solüsyonu (Merck, Almanya) 1/10 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlanmıştır. Steril bir şişe içerisinde oda ısısında muhafaza edilmiştir (17).

Hippurat hidroliz testi ayıraçları

- %10'luk Sodyum Hippurat solüsyonu

10 g sodyum hippurat (H9380; Sigma, Almanya) 100 ml distile su içinde çözülmüş ve kapaklı küçük tüplere 0.4 ml dağıtılmıştır. -20 °C'de en fazla altı ay saklanmıştır (17).

- Ninhidrin ayıracı

Ninhidrin (72490; Sigma-Almanya) 3,5 g

Aseton 50 ml

Bütanol 50 ml

Aseton ve bütanol karıştırılıp üzerine ninhidrin ilave edilmiştir. Oda ısısında koyu renkli bir şişe içinde en fazla altı ay saklanmıştır (17).

İndoksil asetat hidroliz testi ayıracı

%10'luk solüsyon hazırlamak için indoksil asetat maddesinden (13500; Sigma, Almanya) 1 g tartılarak 10 mL aseton içinde eritilmiştir. Bir diske 50 µL çözelti olacak şekilde, öncesinde pastör fırınında steril edilen 6 mm çapındaki kâğıt disklerle çözelti emdirilmiştir. Oda ısısında kurutulduktan sonra kurutulmuş diskler koyu renkli şişede +4 °C'de muhafaza edilmiştir (17).

Nitrat redüktaz testi ayıracıları

- Reaktif A: Sülfanilik asit (86090; Sigma, Almanya)

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, 100 ml sülfanilik asit reaktifi hazırlamak için 70 ml distile suya 0,8 g ticari toz halindeki sülfanilik asitten eklenmiş ve eritmek için mikrodalgada ısıtılmıştır. Soğutulduktan sonra üzerine 30 ml glasiyal asetik asit eklenmiştir. Hazırlanan reaktif karışımı + 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

- Reaktif B: N, N-Dimetil-1-naftilamin (D4011; Sigma, Almanya)

N, N dimetil-alfa-naftilamin 10 ml (şişe)

- Çinko (Zink) (93027 Sigma, Almanya)

Pirazinamidaz testi ayıracı

- Demir Sülfat

Pirazinamidaz hidroliz reaktifi %10 (1 g demir sülfat, 10 ml steril distile su)’luk demir sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) solüsyonu olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaktif -20 °C’de muhafaza edilmiştir (73).

Aminopeptidaz test stripleri (75554; Sigma, Almanya)

Bir kutu içerisinde 50 adet bulunan L-alanin aminopeptidaz emdirilmiş hazır stripler kullanılmıştır.

Hidrojen sülfid test stripleri (06728; Sigma, Almanya)

Kurşun asetat emdirilmiş hazır stripler (kağıt şeritler) kullanılmıştır.

Membran filtre (HAWG047S6; Merckmillipore, Almanya)

0,45 µm gözenek çapına sahip 47 mm çaplı selüloz asetat filtreler kullanılmıştır.

GasPak kitleri (260680; Becton Dickinson, ABD)

%5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂ içeren mikroareofilik ortam sağlanması amacıyla Gaspak kitleri kullanılmıştır.

Api Campy Kiti (20800; Biomerieux SA, France)**Hidrojenden zengin gaz karışımı**

Hidrojenli ortamda inkübasyonunun sağlanması amacıyla özel olarak hazırlanmış hidrojen bakımından zengin gaz karışımı (%1,5 O₂, %7 H₂, %10 CO₂ ve %81,5 N₂) kullanılmıştır (HABAŞ Sınai ve Tıbbi Gazlar A.Ş.). az karışımında kullanılan gazların amaca yönelik optimum miktarları belirlenmiş ve İstanbul Tıp Fakültesi Biyomedikal Biriminin yardımı ile hazırlanan gaz karışımının anaerobik jar içerisine aktarımını mümkün kılan manuel bir gaz düzeneği oluşturulmuştur.

3.2.2.PCR Yönteminde Kullanılan Malzemeler**DNA izolasyon kiti** (Invitrogen; PureLink, ABD)

Çalışmada genomik DNA elde edilmesinde ticari Mini DNA izolasyon kiti kullanılmıştır.

Primerler (Integrated DNA Technologies, ABD)

Çalışmada kullanılan liyofilize haldeki primerlere, üretici firma tarafından önerilen miktarda steril distile su eklenerek 100 µM'lık stok çözeltiler elde edilmiştir. PCR deneylerinde kullanılan primerler Tablo 3-1'de listelenmiştir.

Tablo 3-1: Kullanılan primer dizileri.

Gen	Primer Dizisi	Amplikon büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>Campylobacter</i> cinsi			
C412 F	5'GGA TGA CAC TTT TCG GAG C 3'	816	(47)
C1288 R	5'CAT TGT AGC ACG TGT GTC 3'		(47)
<i>Campylobacter</i> spp.			
IpxAC <i>coli</i>	5'AGA CAA ATA AGA GAG AAT CAG 3'	391	(37)
IpxAC <i>jejuni</i>	5'ACA ACT TGG TGA CGA TGT TGT A 3'	331	(37)
IpxAC <i>lari</i>	5'TRC CAA ATG TTA AAA TAG GCG A 3'	296	(37)
IpxAC <i>upsaliensis</i>	5'AAG TCG TAT ATT TTC YTA CGC TTG TGT G 3'	206	(37)
CmucLpxA:	5'GTA GGC AAA AAT GAG TAA AAT TCA TCA TA 3'	381	
CsputLpxA:	5'TAC TAT TGG AGA TGG CGG AAA AGT ATT TAG C 3'	222	Miller W.G. (kişisel iletişim)
CfetLpxA:	5'CGT TAG TTA CCG TCC AGA AGA AAA TAC A 3'	162	
ChelLpxA:	5'GAC AAA TTC ATT CTA GTG CAG TGA TT 3'	367	
CcurvLpxA:	5'GCA AGA GTC ATC GGA AAC ACG CAA ATA 3'	242	
IpxARKK2m (reverse)	5'CAA TCA TGD GCD ATA TGA SAA TAH GCC AT 3'		(37)
Con1	5'CAG TAT CGG CAA TTC GCT 3'		(3)
Con2	5'GAC AGT STC AAG GAT TTA CG 3'	306	(3)
Muc1	5'ATG AGT AGC GAT AAT TCG G 3'		(3)
HIP400F	5'GAA GAG GGT TTG GGT GGT G'3	735	(46)
HIP1134R	5'AGC TAG CTT CGC ATA ATA ACT TG'3		(46)

Taq DNA Polymeraz (EP0282; Thermofisher Scientific, Litvanya)Taq DNA Polimeraz 5 U/ μ L, 500 U

10X Taq Tampon KCl 2x1, 25 mL

25 mM MgCl₂ 2x1, 25 mL**dNTP Karışımı** (Thermofisher Scientific, Litvanya)

Her biri 100 mM konsantrasyonunda olan dATP, dCTP, dTTP ve dGTP nükleotid çözeltileri kullanılmıştır.

Tris-Borik Asit- EDTA (TBE) Tampon Çözeltisi

TBE çözeltisi 5X konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bunun için, 54 g tris (Wisent Bioproducts, ABD), 27,5 gr borik asit (Sigma, Almanya), 20 ml 0,5M EDTA (Sigma, Almanya) karıştırılmış ve karışım distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti pH

8.3'e ayarlanarak otoklavda steril edilmiştir. TBE stok çözeltisi elektroforez aşamasında distile su ile 1/10 oranında sulandırılarak 0,5X konsantrasyonunda kullanılmıştır.

Etidyum Bromür Stok Solüsyonu (Sigma, Almanya)

Etidyum bromür 10 mg/ml olacak şekilde distile su içerisinde çözülmüş ve oda ısısında ışıktan korunarak saklanmıştır.

DNA Moleküler Ağırlık Markırı (100bp) (Biomatik, ABD)

DNA Jel Yükleme Boyası 6X (R0611; Thermofisher Scientific, Litvanya)

Agaroz (800-015-EG; Wisent Bioproducts, ABD)

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda %1'lik agaroz için 1 g, %2'lik agaroz için 2 g moleküler agaroz ayrı ayrı 100 ml 0,5X TBE tamponu ile mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Karışımın sıcaklığı 50 °C'ye soğutulduktan sonra içerisine 2,5 µl etidyum bromür ilave edilmiştir. Hazırlanan çözelti jel tepsinine dökülmüş ve oda sıcaklığında katılaşıncaya kadar beklenmiştir.

Kontrol Suşlar

On adet kontrol suşu (Tablo 3-2), William G. Miller ve Mary Chapman (*Produce Safety and Microbiology Research Unit, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Albany, California, USA*)'dan temin edilmiştir.

Tablo 3-2: Moleküler deneylerde kullanılan kontrol suşlar.

Kontrol Suş	Koleksiyon No
<i>C. jejuni</i>	NCTC 1168 (RM1862)
<i>C. coli</i>	RM2228
<i>C. upsaliensis</i>	RM3195
<i>C. lari</i>	RM2100
<i>C. fetus</i>	82-40 (RM15492)
<i>C. curvus</i>	525.92 (RM4077)
<i>C. helveticus</i>	ATCC 51209 (RM3228)
<i>C. concisus</i>	13826 (RM5485)
<i>C. mucosalis</i>	ATCC 43264 (RM4114)
<i>C. sputorum</i>	CCUG 20703 (RM4121)

Fenotipik ve biyokimyasal deneylerde kullanılan diğer kontrol suşlar Tablo 3-3'te belirtilmiştir.

Tablo 3-3: Fenotipik ve biyokimyasal deneylerde kullanılan kontrol suşlar.

Kontrol Suş	Koleksiyon No
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619
<i>Helicobacter pylori</i>	ATCC 43504
Salmonella Typhimurium	ATCC 14028

Kullanılan Cihaz, Ekipman ve Diğer Sarf Malzemeler

- Laminar akım kabini
- -80 °C derin dondurucu
- Özel hazırlanmış karışım içeren gaz düzeneği
- Hassas terazi (Radwag, Polonya)
- Mikrodalga
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Ika, Almanya)
- Thermalcyclers (Takara Bio, Japonya)

- Mikrosantrifüj (max 12.000-14.000 rpm / IEC, Micromax RF)
- Isıtıcı blog (Wealtec, ABD)
- Agaroz minijel için dikey elektroforez tankı (~ 7-8 cm X 10 cm)
- Agaroz minijel için yatay elektroforez tankı (~ 10-15 cm X 10-15 cm)
- Agaroz jel tepsi ve tarakları
- Elektroforez tankı (Wealtec, ABD)
- Güç kaynağı (50-150 V)
- UV Transilluminator (Vilber Lourmat)
- Jel görüntüleme cihazı (GL 212 PRO, Carestream, ABD)
- Anaerobik jarlar (Oxoid, İngiltere)
- Tek kullanımlık filtreli uçlar (aralık; 0,5-10 µL; 2-20 µL; 100-1000 µL)
- Mikropipetler (aralık: 0,1-10 µL; 20-200 µL, 200-1000 µL)
- Tek kullanımlık steril özeler
- Tek kullanımlık steril petriler
- Ependorf tüpler (2 ml, 0,1 ml), mezür (1L, 500 ml), beher (250 ml, 500 ml)
- Otoklavlanabilir kapaklı cam şişeler (Schott şişe 1L, 500 ml).

3.3.YÖNTEMLER

Çalışmaya dâhil edilen 500 hasta ve 100 sağlıklı kontrole ait olmak üzere toplam 600 dışkı örneği bekletilmeden incelemeye alınmıştır. Klasik ‘*Campylobacter* kültür yöntemi’ ve ayrıca filtrasyon tekniğini içeren kültür yöntemi kullanılarak izole edilen *Campylobacter* suşlarının cins ve tür düzeyinde identifikasyonları hem konvansiyonel fenotipik ve biyokimyasal yöntemler hem de multipleks PCR (mPCR) yöntemi ile yapılarak *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki diğer türlerin varlığı araştırılmıştır.

3.3.1.Kültür Yöntemi ile *Campylobacter* İzolasyonu

3.3.1.1.Örneklerin ekimi

Klasik kültür yöntemi

Dışkı örneklerinden *Campylobacter* izolasyonu için modifiye karkoal sefoperazon deoksikolat agar (mCCDA) ve Butzler selektif besiyerleri kullanılmıştır.

Taze dışkı örneği steril eküvyon yardımı ile iki ayrı mCCDA besiyerine ve bir Butzler selektif besiyerine doğrudan sürülmüş ve daha sonra steril öze yardımı ile agar yüzeyine azaltma yöntemi ile yayılmıştır.

Filtrasyon tekniği

Filtrasyon tekniği ile örnek ekimi, Cape Town protokolüne göre gerçekleştirilmiştir (42). Bu protokole göre, dışkı örnekleri önce tuzlu su ile süspanse edilmiş, mukoid örnekler vortekslenmiştir. TBA besiyerinin merkezine steril selüloz asetat membran filtreler yerleştirilerek bir pipet yardımı ile dışkı süspanسیونundan 8-10 damla filtrenin merkezine aktarılmıştır. 15-20 dakika filtrasyon işlemi sonrasında filtreler steril pens yardımı ile kaldırılarak atılmıştır.

İnkübasyon

Ekim yapılan Butzler besiyeri ve mCCDA besiyerlerinden biri jar içerisinde mikroaerofilik koşullarda (%5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂) 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Filtrasyon tekniğinin uygulandığı kanlı agar (TBA) ve ikinci mCCDA besiyeri H₂ gereksinimi gösteren türler için kullanılmıştır. Bu besiyerleri ise ekim yapıldıktan sonra anaerobik jar içerisine yerleştirilmiş ve 37 °C'de H₂ bakımından zenginleştirilmiş mikroaerobik ortamda (%1,5 O₂, %7 H₂, %10 CO₂ ve %81,5 N₂) altı gün inkübe edilmiştir. Besiyerleri iki günde bir üreme açısından kontrol edilmiştir.

İzole edilen *Campylobacter* suşları identifikasyon yöntemleri yapılanaya kadar %20 gliserol içeren Brusella buyyonunda -80 C'de dondurularak saklanmıştır.

3.3.2.*Campylobacter* Türlerinin İdentifikasyonu

3.3.2.1.Fenotipik ve biyokimyasal yöntemlerle identifikasyon

İnkübasyon sonrası kanlı agarda üreyen düzgün kenarlı, parlak, şeffaf veya grimsi renkte *Campylobacter*'e benzeyen şüpheli kolonilere oksidaz testi uygulanmış ve

kolonilerden Gram boyama hazırlanmıştır. Mikroskopik incelemede Gram negatif, karakteristik martı kanadı şeklinde, S biçiminde veya kıvrık morfolojide tespit edilen, oksidaz pozitif, L-alanin testi negatif özellikteki suşlar *Campylobacter* cinsi olarak değerlendirilmiştir.

Campylobacter cinsi olarak belirlenen tüm suşlar hippurat hidrolizi testi ile denenmiş ve hippurat pozitif saptananlar *C. jejuni* olarak adlandırılmıştır. Ayrıca tüm suşlar katalaz enzim aktivitesi, indoksil asetat hidrolizi, pirazinamidaz hidrolizi, nitrat indirgenmesi, strip testi ile ve üç şekerli demirli besiyerinde H₂S üretimi, üre hidrolizi, 25 °C ve 42 °C'de üreme, %1 glisinde ve MacConkey agarda üreme, hidrojenli ortamda üreme, sefalotin, nalidiksik aside duyarlılık özellikleri incelenerek değerlendirilmiştir. Fenotipik ve biyokimyasal testlerin değerlendirilmesinde şematik tablolardan yararlanılmıştır. Tür düzeyinde identifikasyonda ApiCampy kitinden de yararlanılmıştır (21, 39, 66).

Oksidaz testi

Bir çubuk yardımı ile saf kültürdeki taze kolonilerden filtre kağıdına sürülmüş ve 1-2 damla oksidaz ayırıcı damlatılmıştır. 10-30 sn içerisinde gelişen koyu mavi-mor renk pozitif, 30-60 sn içerisindeki renk değişimi zayıf pozitif, 60 sn içerisinde renk değişimi gözlenmemiş ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Testte kullanılan kontrol suşları (17).

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 oksidaz pozitif

Escherichia coli ATCC 25922 oksidaz negatif

L-Alanin aminopeptidaz testi

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda steril eküvyon çubuğu ile alınan taze koloni 0,2 ml distile su içeren tüpte süspansiyon edilmiştir. Bir adet test stribi tüp içerisine yerleştirilmiş ve 10-30 dk. Hidrojence zengin 37 °C'de inkübe edilmiştir. Tüp sıvısında sarı renk oluşumu pozitif reaksiyon, renk değişimi gözlenmemesi negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Testte kullanılan kontrol suşlar:

Escherichia coli ATCC 25922 aminopeptidaz pozitif

Staphylococcus aureus ATCC 25923 aminopeptidaz negatif

Hippurat hidrolizi testi

Saf kültürdeki kolonilerden steril eküvyon çubuğu yardımı ile alınarak ependorf tüp içerisindeki hippurat besiyeri içerisine süspanse edilmiştir. 2 saat 35 dakika 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Süre bittikten sonra 0,4 ml ninhidrin süspansiyona eklenerek iyice karıştırılmıştır ve tekrar 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Renk değişimi gözlenmiştir. Tüp içerisinde ilk 10 dk içerisinde koyu lacivert renk oluşumu kuvvetli pozitif (3+ / 4+) reaksiyon, açık mor renk oluşumu zayıf pozitif (1+ / 2+) reaksiyon, renk değişimi gözlenmemesi negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (17). Testte kullanılan kontrol suşlar:

Campylobacter jejuni NCTC 11168 hippurat pozitif

Campylobacter fetus RM15492 hippurat negatif

Katalaz testi

Temiz bir lama bir damla hidrojen peroksit reaktifi damlatılmıştır. Bir çubuk yardımı ile taze koloniden alınarak reaktif ile karıştırılmıştır. 20 saniye içinde kabarcık oluşumu gözlenmiş ise pozitif reaksiyon; bir veya iki kabarcık gözlenmiş ise zayıf reaksiyon olarak, gözlenmemiş ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (17). Testte kullanılan kontrol suşlar:

Staphylococcus aureus ATCC 25923- katalaz pozitif

Streptococcus pneumoniae ATCC 49619- katalaz negatif

MacConkey agarda üreme

Saf kültürden alınarak MacConkey agara ekim yapılmıştır. Besiyeri hidrojen zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde gözle görülür tek kolonilerin üremesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (73).

%1 Glisin'de üreme

Saf kültürden alınarak %1 glisin içeren agara ekim yapılmıştır. Besiyeri hidrojenden zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde ekim çizgisi boyunca herhangi bir üreme gözlenmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (73).

Üre hidrolizi testi

Saf kültürden alınarak tüpteki eğri agar yüzeyine ekim yapılmıştır. Dip kısmına batırılmamıştır. Tüpler hidrojenden zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde pembe renk değişimi pozitif reaksiyon olarak, renk değişimi gözlenmemesi negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (17). Testte kullanılan kontrol suşlar:

Helicobacter pylori ATCC 43504 üreaz pozitif

Campylobacter jejuni NCTC 11168 üreaz negatif

TSI'da H₂S oluşturma

Saf kültürden alınarak eğri agar yüzeyine inoküle edilmiştir ayrıca iğne ile dip kısmına da batırılmıştır. Tüpler hidrojenden zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde siyah renk oluşumu H₂S üretimi pozitif, renk değişimi gözlenmemesi H₂S üretimi negatif olarak değerlendirilmiştir (17). Testte kullanılan kontrol suşlar:

Salmonella Typhimurium ATCC 14028 H₂S pozitif

Campylobacter jejuni NCTC 11168 H₂S negatif

H₂S strip testi

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda steril eküvyon çubuğu ile alınan taze koloniler peptonlu su içeren tüpte süspanse edilmiştir. Bir adet kurşun asetat emdirilmiş strip (kağıt şerit) tüpün ağzında bulunan pamuğun kenarına yerleştirilmiş ve tüpler hidrojenden zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Kâğıt şeritteki renk değişimi gözlenerek–siyah renk oluşumu H₂S üretimi pozitif, renk değişimi olmaması H₂S üretimi negatif olarak değerlendirilmiştir. Testte kullanılan kontrol suşlar:

Campylobacter jejuni NCTC 11168 H₂S negatif

Salmonella Typhimurium ATCC 14028 H₂S pozitif

Pirazinamidaz hidrolizi

Yarı katı pirazinamidaz agarın üst bölgesinde üçte birlik kısmına denk gelecek şekilde taze koloniler steril iğne yardımı ile birkaç kez batırılarak inoküle edilmiştir. Tüpler hidrojen zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında tüplere 1 ml demir sülfat reaktifi eklenerek renk değişimi gözlenmiştir. 15 dakika içerisinde agarda kahverengimsi bir halkanın oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Testte kullanılan kontrol suşlar (73):

Campylobacter jejuni NCTC 11168 pirazinamidaz pozitif

Campylobacter fetus RM15492 pirazinamidaz negatif

İndoksil asetat hidrolizi

Bir çubuk yardımı ile taze koloniden alınmış ve indoksil asetat ile nemlendirilmiş filtre kağıdına sürülmüştür. Üzerine bir damla serum fizyolojik ilave edilmiş ve kâğıtta renk değişimi gözlemlenmiştir. *Campylobacter* spp. için 5-10 dk içerisinde gelişen koyu mavi renk pozitif reaksiyon, 10-30 dk içerisinde soluk mavi renk zayıf pozitif, 30 dk içerisinde renk değişimi gözlenmemiş ise negatif olarak değerlendirilmiştir (17). Testte kullanılan kontrol suşlar:

Campylobacter jejuni NCTC 11168 indoksil asetat pozitif

Campylobacter fetus RM15492 indoksil asetat negatif

Nitrat redüksiyonu testi

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda steril eküvyon çubuğu yardımı ile taze koloniler Durham tüpü içeren nitrat sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. Tüpler hidrojen bakımından zengin mikroaerofilik ortam içerisinde 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Durham tüpündeki gaz varlığı ve tüpteki üreme gözlemlenmiştir. Üreme mevcut ise önce 2-3 damla reaktif A eklenerek çalkalanmış, sonrasında 2-3 damla reaktif B eklenerek aynı işlem tekrar edilmiştir. Tüpteki renk değişimi incelenmiştir. *Campylobacter* spp. için 1-2 dk içerisinde gelişen kırmızı renk pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. 10 dk içerisinde renk değişimi gözlenmediğinde tüpe steril öze ile bir miktar çinko eklenmiş ve tekrar incelenmiştir. Çinko eklendikten sonra renkte yine bir değişim oluşmadığında pozitif reaksiyon; kırmızı renk değişimi olduğunda negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Testte kullanılan kontrol suşlar:

Campylobacter jejuni NCTC 11168 nitrat pozitif

Campylobacter fetus RM15492 nitrat negatif

Nalidiksik asit / sefalotin duyarlılık testi

Taze kolonilerden steril eküvyon yardımı ile öze dolusu alınarak 2 ml buyyon içerisinde 0,5 McFarland olacak şekilde süspansiyon edilmiştir. Daha sonra 2 alana ayrılmış Müller Hilton kanlı besiyerine bu eküvyon ile süspansiyon iyice yayılmıştır. Steril pens yardımı ile nalidiksik asit (30 µg) ve sefalotin (30 µg) diskleri ayrı ayrı besiyerinin merkezine olacak şekilde yerleştirilmiştir. Besiyerleri hidrojen zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde inhibisyon zonu oluşumu gözlenmiştir. İnhibisyon zonu oluşması duyarlı, inhibisyon zonu oluşmaması dirençli olarak değerlendirilmiştir (26, 71).

ApiCampy kiti ile identifikasyon

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda taze koloni ile çalışılmış ve değerlendirilmiştir. ApiCampy test stripleri hidrojen zengin mikroaerofilik ortamda 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Testte kullanılan kontrol suş:

Campylobacter jejuni NCTC 11168

3.3.2.1.PCR yöntemiyle identifikasyon

DNA izolasyonu

PCR amplifikasyonunda kullanılacak hedef DNA, kültür yöntemi ile kanlı veya selektif besiyerlerinden izole edilen *Campylobacter* spp. suşlarından DNA ekstraksiyon kiti ile elde edilmiştir (49).

Cins düzeyinde spesifik PCR

Campylobacter cinsi izolatların moleküler olarak identifikasyonunda 16S rRNA genine spesifik 816 bp uzunluğundaki C412F ve C1288K primer çifti kullanılmıştır. Kullanılan primer sekansları Tablo 3-1' de listelenmiştir (47).

Amplifikasyon

Reaksiyon karışımı her bir örnek için; 2,5 mM MgCl₂; dATP, dCTP, dGTP ve dTTP'nin herbirinden 200 µM içeren dNTP çözeltisi, 0,4 µM primer, 0,625 U Taq DNA polimeraz, 1X Taq tampon ve 5 µl hedef DNA içeren son konsantrasyon toplamda 50µl olacak şekilde steril distile su ilavesi ile hazırlanmıştır.

Amplifikasyon programı her bir döngü için sırasıyla 94 °C'de 1 dk denatürasyon, 55 °C'de 1 dk bağlanma ve 72 °C'de 1 dk uzama basamaklarını içerecek şekilde toplamda 25 amplifikasyon döngüsü halinde uygulanmıştır (47).

Elektroforez ve görüntüleme

Daha önceden hazırlanmış olan %1 agaroz jel yeterli miktarda 0.5X TBE tamponu içeren elektroforez haznesine yerleştirilmiştir. Amplifikasyon sonucu elde edilen reaksiyon ürünlerinden 5 µl ve 2 µl yükleme tamponu karıştırılarak agaroz jel içerisindeki kuyucuklara yüklenmiş ve elektroforezde yürütülmüştür. Elde edilen spesifik DNA bantları jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir (47).

Sonuçların Değerlendirilmesi

DNA Markırı üzerinde 816 bp'a karşılık gelen DNA bantları *Campylobacter* cinsi olarak belirlenmiştir (47).

Tür düzeyinde spesifik multipleks PCR (mPCR)

PCR yöntemiyle *Campylobacter* cinsi olarak doğrulanan suşlar üç ayrı mPCR ile tür düzeyinde identifiye edilmişlerdir.

Multipleks 1 ve Multipleks 2 PCR

C. jejuni, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis* türlerinin tanımlanmasında kullanılan Multipleks 1 PCR'da lpxA housekeeping gen bölgesine spesifik primerler kullanılmıştır (Tablo 3-1) (37).

C. fetus, *C. sputorum*, *C. curvus*, *C. helveticus* ve *C. mucosalis* türlerinin tanımlanmasında kullanılan Multipleks 2 PCR'da Tablo 3-1'de gösterilen lpx A housekeeping gen bölgesine spesifik primerler kullanılmıştır (Miller W.G. Kişisel iletişim).

Amplifikasyon

Reaksiyon karışımına her bir örnek için; 2,5 U Taq DNA polimeraz, 1 ×PCR tampon, 200µm dNTP, herbir forward primerden 10 pmol/µl, 30 pmol/µl reverse primer ve 3µl hedef DNA eklenmiştir. Son konsantrasyon toplamda 50 µl olacak şekilde steril distile su ilavesi ile (49).

Amplifikasyon programı her bir döngü için sırasıyla 94 °C’de 1 dk denatürasyon, 60 °C’de 1 dk bağlanma ve 72 °C’de 1 dk uzama basamaklarını içerecek şekilde toplamda 27 amplifikasyon döngüsü halinde uygulanmıştır (37).

Elektroforez ve görüntüleme

Daha önceden hazırlanmış olan agaroz jel yeterli miktarda 0.5X TBE tamponu içeren elektroforez haznesine yerleştirilmiştir. Amplifikasyon sonucu elde edilen reaksiyon ürünlerinden 5 µl ve 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak %2 agaroz jel içerisindeki kuyucuklara yüklenmiş ve elektroforezde yürütülmüştür. Elde edilen spesifik DNA bantları jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir (49).

Sonuçların Değerlendirilmesi

Multipleks 1 PCR’da DNA markırı üzerinde 331 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. jejuni*, 391 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. coli*, 206 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. upsaliensis*, 296 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. lari* olarak belirlenmiştir (37).

Multipleks 2 PCR’da DNA markırı üzerinde 162 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. fetus*, 222 bp karşılık gelen DNA bantları *C. sputorum*, 242 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. curvus*, 367 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. helveticus* ve 381 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. mucosalis* olarak belirlenmiştir (Miller W.G. Kişisel iletişim).

Multipleks 3 PCR

C. concisus ve biyokimyasal açıdan benzer özellikteki *C. mucosalis* türlerinin ayrımını sağlayan Multipleks 3 PCR’da, 23S rDNA geni üzerinde 306 bp uzunluğundaki bölgeyi hedefleyen Con1, Con2 ve Muc1 spesifik primerleri (Tablo 3-1) kullanılmıştır (3).

Amplifikasyon

Reaksiyon karışımına her bir örnek için; 2.5 U Taq DNA polimeraz, 1×PCR tamponu, 200µM dNTP, Con1 ve Con2 primerlerinin her birinden 5 pmol/µl, 10 pmol/µl Muc1 primeri, 2.4µl 25mM MgCl₂ ve 3µl hedef DNA eklenmiştir. Son konsantrasyon 50 µl olacak şekilde steril distile su ilavesi ile hazırlanmıştır (49).

Amplifikasyon programı her bir döngü için sırasıyla 94 °C’de 1 dk denatürasyon, 60 °C’de 1 dk bağlanma ve 72 °C’de 1 dk uzama basamaklarını içerecek şekilde toplamda 27 amplifikasyon döngüsü halinde uygulanmıştır (3).

Elektroforez ve görüntüleme

Daha önceden hazırlanmış olan agaroz jel yeterli miktarda 0.5X TBE tamponu içeren elektroforez haznesine yerleştirilmiştir. Amplifikasyon sonucu elde edilen reaksiyon ürünlerinden 5 µl ve 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak %2 agaroz jel içerisindeki kuyucuklara yüklenmiş ve elektroforezde yürütülmüştür. Elde edilen spesifik DNA bantları jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir (49).

Sonuçların Değerlendirilmesi

Multipleks 3 PCR’da DNA markırı üzerinde 306 bp’a karşılık gelen DNA bantları *C. concisus* olarak belirlenmiştir (3).

hipO genine spesifik PCR

Reaksiyon karışımına her bir örnek için; 2,5 mM MgCl₂; dATP, dCTP, dGTP ve dTTP’nin herbirinden 200 µM içeren dNTP çözeltisi, 0,4 µM primer, 0,625 U Taq DNA polimeraz, 1X Taq tamponu ve 5 µl hedef DNA eklenmiştir. Son konsantrasyon toplamda 50µl olacak şekilde steril distile su ilavesi ile hazırlanmıştır.

Amplifikasyon programı her bir döngü için sırasıyla 94 °C’de 1 dk denatürasyon, 66 °C’de 1 dk bağlanma ve 72 °C’de 1 dk uzama basamaklarını içerecek şekilde toplamda 25 amplifikasyon döngüsü halinde uygulanmıştır (47).

Amplifikasyon sonucu elde edilen reaksiyon ürünleri %1 agaroz jelde elektroforezde yürütülmüştür. Jel görüntüleme sistemi kullanılarak DNA markırı üzerinde 735 bp’a karşılık gelen DNA bantları *hipO* geninin varlığını göstermiştir (46).

3.4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değeri değerlendirilmesi Fisher's exact test ile yapılmıştır. Bu teste göre $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (36).



4. BULGULAR

4.1.HASTALARA AİT DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Çalışma grubunda incelenen 500 dışkı örneğinin %77,8 (389)'inin poliklinik hastası, %22,2 (111)'sinin serviste yatan hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Örneklerin %47,8 (239)'i kadın, %52,2 (261)'si erkek hastalara aittir. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 4-1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş	Cinsiyet		Toplam
	Kadın	Erkek	
0-5	38	50	88
6-17	30	34	64
18-45	88	90	178
46-59	39	47	86
≥60	44	40	84
Toplam	239 (%47,8)	261 (%52,2)	500 (%100)

4.2.DIŞKI ÖRNEKLERİNE AİT ÖZELLİKLER

Hastalara ait dışkı örnekleri makroskopik özelliklerine göre incelendiğinde; 175 (%35)'i sulu, 173 (%34,6)'ü sulu mukuslu, 119 (%23,8)'u yarıkatı, 18 (%3,6)'i yarıkatı mukuslu, 11 (%2,2)'i kanlı mukuslu, üçü (%0,6) kanlı sulu ve birinin (%0,2) yarıkatı kanlı olduğu belirlenmiştir.

Mikroskopik incelemelerde dışkıların %33,6 (n:168)'sında polimorf nüveli lökosit (PNL) görülürken %66,4 (n:332)'ünde PNL görülmemiştir.

4.3.KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN İZOLASYON BULGULARI

Kültür yöntemiyle akut gastroenterit ön tanısı ile gönderilen 500 hastanın 31 (%6,2)'inde *Campylobacter* spp. izole edilmiştir. Sağlıklı gönüllülere ait 100 dışkı örneğinde *Campylobacter* spp. suşu izole edilmemiştir.

Campylobacter spp. saptanan 31 hastanın 18 (%58,1)'inin kadın, 13 (%41,9)'ünün erkek hastalar olduğu görülmüştür. Hastaların beşi (%16,1)'i yatan hasta olup, 26 (%83,9)'sı ayaktan başvuru yapan poliklinik hastalarıdır.

Campylobacter spp. izole edilen hasta dışkılarının makroskopik özellikleri incelendiğinde, dışkıların 11 (%35,5)'inin sulu, 11 (%35,5)'inin sulu mukuslu, 5 (%16,1)'inin yarıkatı, 3 (%9,7)'ünün yarıkatı mukuslu, bir (%3,2)'inin kanlı olduğu görülmüştür. Bu dışkıların %41,9 (13/31)'unda PNL görülmüş, %58,1 (18/31)'inde ise PNL görülmemiştir.

Dışkısında *Campylobacter* spp. üremesi saptanan akut gastroenterit ön tanılı 31 hastanın 27'sinin tıbbi öyküsünde altta yatan bir hastalık belirtilmemiş olup dördünün böbrek nakilli hastalar olduğu belirlenmiştir.

Standart ekim yönteminin uygulandığı seçici besiyerleri incelendiğinde, mikroaerofilik ortamda inkübe edilen Butzler besiyerinde 30, mCCDA besiyerinde 25, hidrojen zengin ortamda inkübe edilen mCCDA besiyerinde ise 26 *Campylobacter* suşu izole edilmiştir. Filtrasyon tekniği ile antibiyotiksiz kanlı besiyerinde (TBA) (Resim 4-1) 31 suş izole edilmiştir (Tablo 4-2). Eşzamanlı olarak rutin laboratuvarında da dışkı kültürleri yapılan bu 31 hastaya ait dışkı örneğinde *Campylobacter* dışında *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Yersinia* ve *Vibrio* cinsi bakteri saptanmamıştır.

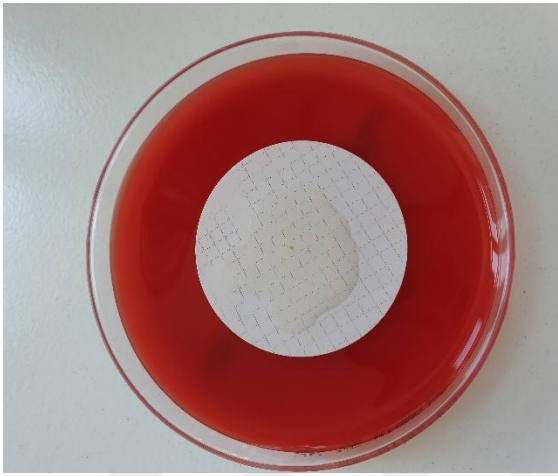
Filtrasyon yöntemiyle izole edilen 31 suşun 21'i *C. jejuni*, 9'u *C. coli* ve biri *C. concisus* olarak tanımlanmıştır. Mikroaerofilik ortamda inkübe edilen Butzler besiyerinde ise izole edilen 30 *Campylobacter* suşunun 20'si *C. jejuni*, 9'u *C. coli* ve biri *C. concisus* olarak tanımlanmıştır. Hidrojenli ortamda inkübe edilen mCCDA besiyerinde 18 *C. jejuni*, 7 *C. coli* ve 1 *C. concisus*; hidrojenli ortamda inkübe edilen mCCDA besiyerinde ise 18 *C. jejuni*, 6 *C. coli* ve 1 *C. concisus* izole edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan kültür yöntemleri *Campylobacter* spp. izolasyon sayıları açısından istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Filtrasyon yöntemi uygulanarak hidrojen zengin ortamda inkübe edilen kanlı agar (TBA) ile mikroaerofilik ortamda inkübe edilen Butzler selektif besiyeri ve hidrojen zengin ortamda inkübe edilen mCCDA besiyeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ($p > 0.05$), filtrasyon yönteminin mikroaerofilik ortamda inkübe edilen mCCDA besiyerine göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir ($p = 0,0240$). Ayrıca *Campylobacter* spp. izolasyonunda filtrasyon yöntemine yakın sonuçların alındığı Butzler selektif besiyeri ile hem mikroaerofilik ortamda hem de hidrojen zengin ortamda inkübe edilen mCCDA selektif besiyeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 4-2: Farklı besiyeri, yöntem ve üreme ortamlarında *Campylobacter* spp. izolasyonu.

	Hidrojen zengin ortam		Mikroaerofil ortam	
	TBA (filtrasyon yöntemi)	mCCDA	Butzler	mCCDA
Pozitif (n)	31	26	30	25
Negatif (n)	0	5	1	6

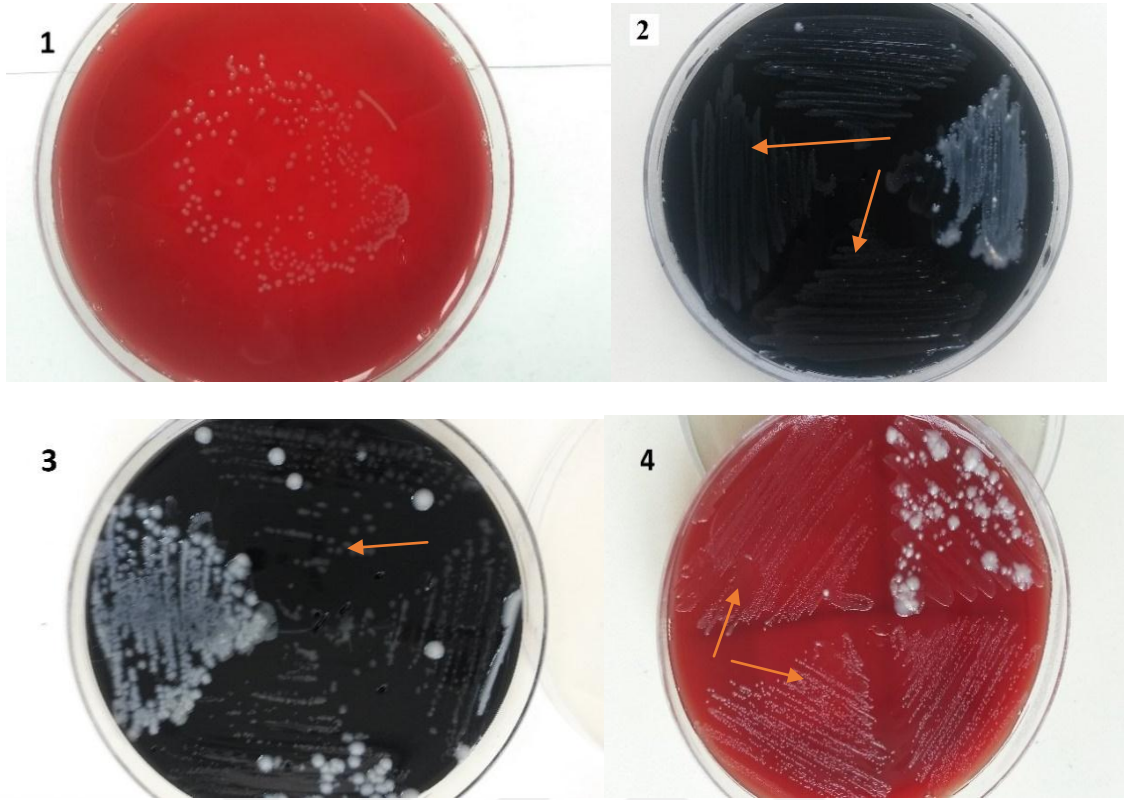
TBA: Triptoz kanlı agar; mCCDA: Modifiye karkoal sefooperazon deoksikolat agar; Butzler: Butzler selektif besiyeri.

**Resim 4-1: Filtrasyon tekniği.**

4.4. İDENTİFİKASYON BULGULARI

4.4.1. Fenotipik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Elde Edilen Bulgular

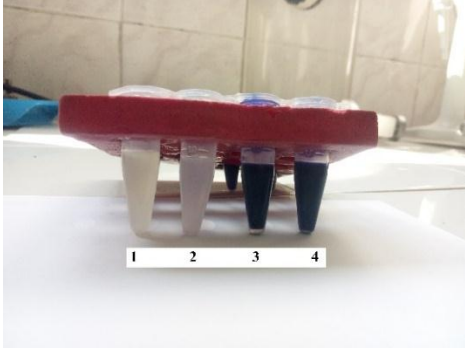
Besiyerlerinde mikroaerofilik koşullarda tipik koloni morfolojisi oluşturan (Resim 4-2) mikroskopik olarak kıvrık, S biçiminde ya da martı kanadı şeklinde görülen, gram negatif, L-alanin testi negatif ve oksidaz pozitif özellikteki 31 suş fenotipik ve biyokimyasal yöntemlerle *Campylobacter* cinsi olarak adlandırılmıştır.



Resim 4-2: Besiyerlerinde üreyen *Campylobacter* spp. kolonilerinin görünümü.

1- Hidrojenli ortamda filtrasyon yöntemi ile üreme 2- Hidrojenli ortamda mCCDA besiyerinde üreme 3- Mikroaerofil ortamda mCCDA besiyerinde üreme 4 - Mikroaerofil ortamda Butzler besiyerinde üreme

Campylobacter cinsi olarak tanımlanan tüm suşlar katalaz varlığı, hippurat hidrolizi, indoksil asetat hidrolizi, nitrat redüksiyonu, pirazinamidaz varlığı, üre hidrolizi, strip testi ile ve üç şekerli demirli besiyerinde H₂S üretimi, 25 °C ve 42 °C’de üreme, H₂ gereksinimi, %1 glisin’de ve MacConkey’de üreme özellikleri, sefalotin ve nalidiksik aside duyarlılıkları açısından değerlendirilmiştir (Tablo 4-3, Resim 4-3, Resim 4-4). Otuz bir *Campylobacter* spp. suşunun 22’sinin hippuratu hidrolize ettiği (13’ü kuvvetli pozitif [3+ / 4+] ve 9’u zayıf pozitif [1+ / 2+]) saptanmış (Resim 4-3) ve diğer biyokimyasal özellikleri ile birlikte *C. jejuni* olarak tanımlanmıştır. Diğer 9 suşun ise hippurat hidrolizi reaksiyonunun negatif olduğu belirlenmiştir.



Resim 4-3: Hippurat hidrolizi deneyi.

1- Negatif Kontrol (*C. fetus* RM15492) 2- Hippurat hidrolizi (-) klinik suş 3- Hippurat hidrolizi (+) klinik suş 4- Pozitif kontrol (*C. jejuni* NCTC 11168)

Hippurat hidrolizi deneyi sonucunda 30 suşun 21'i hippurat pozitif (*C. jejuni*) ve 9'u hippurat negatif (*C. coli*) bulunmuştur. H₂ gereksinimi göstermeyen bu suşlar; katalaz pozitif, indoksil asetat hidrolizi pozitif, nitrat redüksiyonu pozitif, H₂S strip testi pozitif, üreaz negatif, üç şekerli demirli besiyerinde H₂S üretimi negatif, 25 °C'de üreme negatif, 42 °C'de üreme pozitif, %1 glisin'de üreme pozitif ve MacConkey'de üreme negatif bulunmuştur.

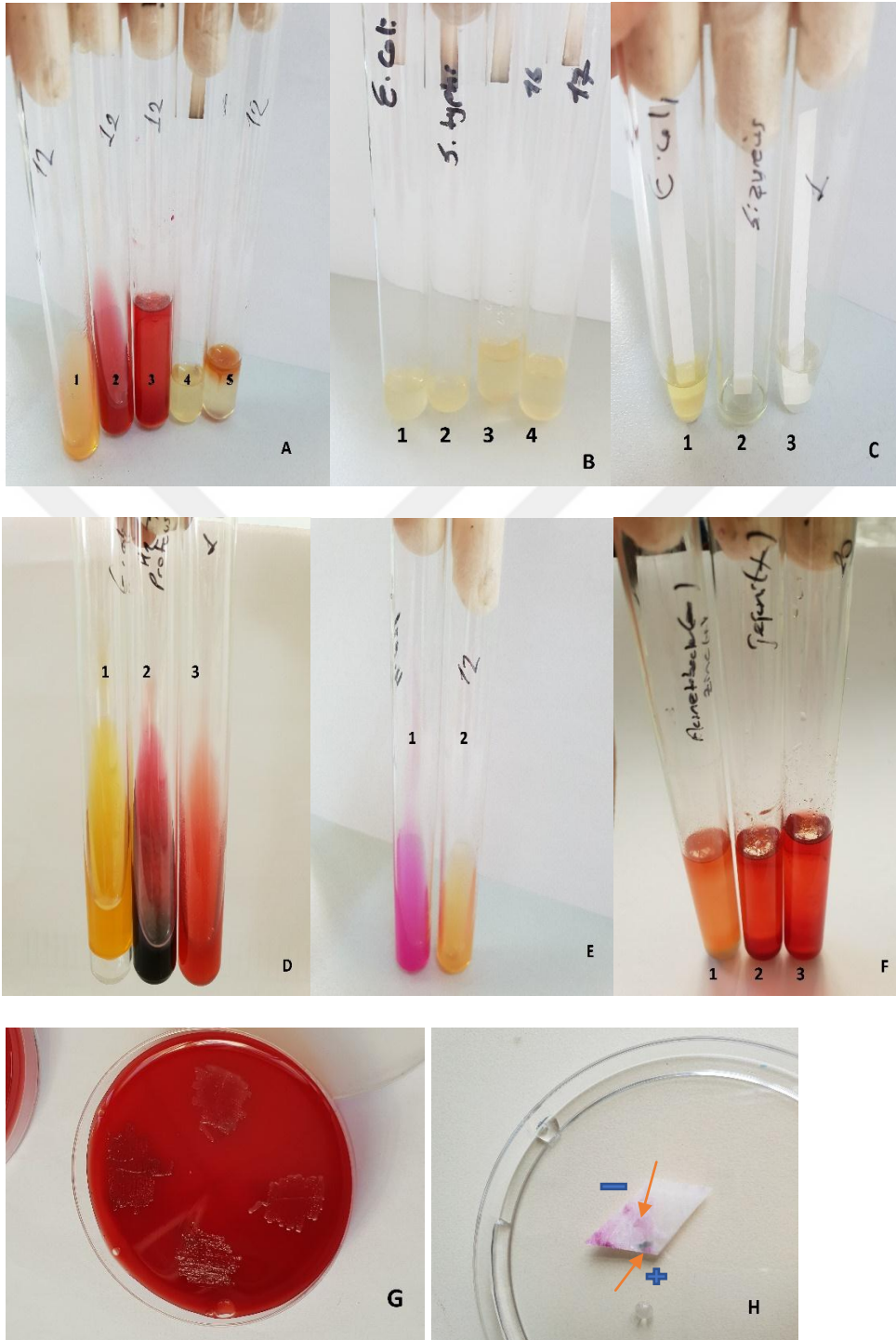
C. jejuni (n: 21) suşlarının 20'si pirazinamidaz pozitif, biri pirazinamidaz negatif, tamamı sefalotine dirençli, 16'sı nalidiksik aside a dirençli, beşi nalidiksik aside duyarlı; *C. coli* (n:9) suşlarının ise 7'si pirazinamidaz pozitif, ikisi pirazinamidaz negatif, 6'sı sefalotin dirençli, biri sefalotin duyarlı, 9'u nalidiksik aside dirençli bulunmuştur.

Tablo 4-3: İzole edilen *Campylobacter* suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri.

Suş No	mPCR	Hippurat	Oksidaz	Katalaz	İndoksil asetat	Pirazi-namidaz	Nitrat	H ₂ S strip testi	Üreaz	TSI	25 °C	42 °C	%1 glisin	Amino-peptidaz	Mac-Conkey	Sefalotin	Nalidiksik asit
1	<i>C. jejuni</i>	+ (2)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
2	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	zayıf+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	H	D
3	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
4	<i>C. jejuni</i>	+ (2)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
5	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	+	+	zayıf+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
6	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	zayıf+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
7	<i>C. jejuni</i>	+ (3)	+	+	+	+	+	zayıf+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
8	<i>C. jejuni</i>	+ (2)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
9	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	zayıf+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
10	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
11	<i>C. jejuni</i>	+ (1)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
12	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
13	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
14	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
15	<i>C. jejuni</i>	+ (1)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	H
16	<i>C. jejuni</i>	+ (3)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
17	<i>C. jejuni</i>	+ (3)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D

Tablo 4-3: İzole edilen *Campylobacter* suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri (Devam).

Suş No	mPCR	Hippurat	Oksidaz	Katalaz	İndoksil asetat	Pirazi-namidaz	Nitrat	H ₂ S strip testi	Üreaz	TSI	25 °C	42 °C	%1 Glisin	Amino-peptidaz	Mac-Conkey	Sefalotin	Nalidiksik asit
18	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
19	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	H
20	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
21	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
22	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
23	<i>C. jejuni</i>	+ (1)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
24	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
25	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	zayıf +	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	H
26	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
27	<i>C. jejuni</i>	+ (2)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
28	<i>C. jejuni</i>	+ (2)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	H
29	<i>C. coli</i>	- (0)	+	+	zayıf +	+	zayıf +	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D
30	<i>C. jejuni</i>	+ (4)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	H
31	<i>C. concisus</i>	2 (Yalancı +*)	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	D	D



Resim 4-4: *Campylobacter* spp. suşlarına uygulanan fenotipik ve biyokimyasal testler

A. 1- Üreaz hidroliz besiyeri 2- Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) 3- Nitrat (sıvı) besiyeri 4- Peptonlu suda kurşun asetat kağıdı ile H₂S testi 5- Pirazinamidaz (yarıkati) besiyeri B. 1- H₂S test stribi negatif kontrol (*E. coli* ATCC 25922) 2- H₂S test stribi pozitif kontrol (*S. Typhimurium* ATCC 14028) 3,4- H₂S test stribi pozitif klinik suş C.1- Aminopeptidaz pozitif kontrol (*E. coli* ATCC 25922) 2- Aminopeptidaz negatif kontrol (*S. aureus* ATCC 25923) 3- Aminopeptidaz negatif klinik suş D. 1-H₂S (TSI) negatif kontrol (*E. coli* ATCC 25922) 2- H₂S (TSI) pozitif kontrol

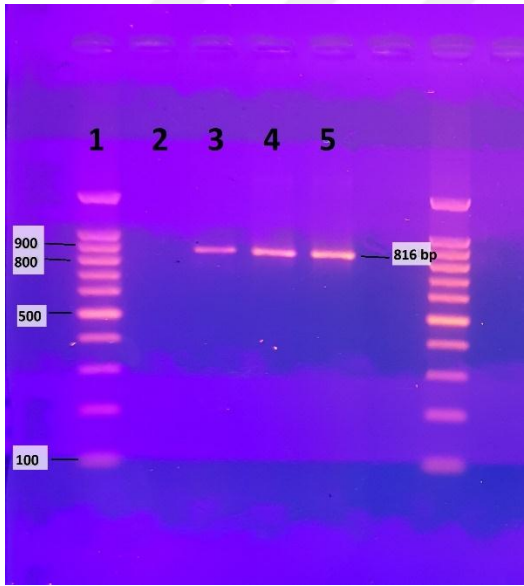
(*Proteus* klinik suş) 3- H₂S (TSI) negatif klinik suş E. 1-Üreaz pozitif kontrol (*H. pylori* ATCC 43504) 2- Üreaz negatif klinik suş F. 1-Nitrat negatif kontrol (*Acinetobacter* klinik suş) 2- Nitrat pozitif kontrol (*C. jejuni* RM15492) 3- Nitrat pozitif klinik suş G. %1 glisin'de üreme pozitif klinik suşlar H. 1-İndoksil asetat pozitif kontrol (*C. jejuni* NCTC 11168) 2- İndoksil asetat negatif kontrol (*C. fetus* RM15492)

Hippurat hidrolizi pozitif saptanan 22 suş ve hippurat hidrolizi negatif saptanan 9 suş daha sonra moleküler yöntemlerle cins ve tür düzeyinde incelenmiştir.

4.4.2.Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen İdentifikasyon Bulguları

4.4.2.1.Cins düzeyinde PCR sonuçları

Kültürde izole edilen ve fenotipik ve biyokimyasal özellikleri ile *Campylobacter* olarak tanımlanan 31 suş *Campylobacter* cinsinin 16S rRNA genine spesifik C412F ve C1288K primer çifti kullanılarak PCR yöntemi ile çalışılmış ve ve tamamı 816 bp'e karşılık gelen bantta görüntülenerek *Campylobacter* cinsi olarak identifiye edilmiştir (Resim 4-5).



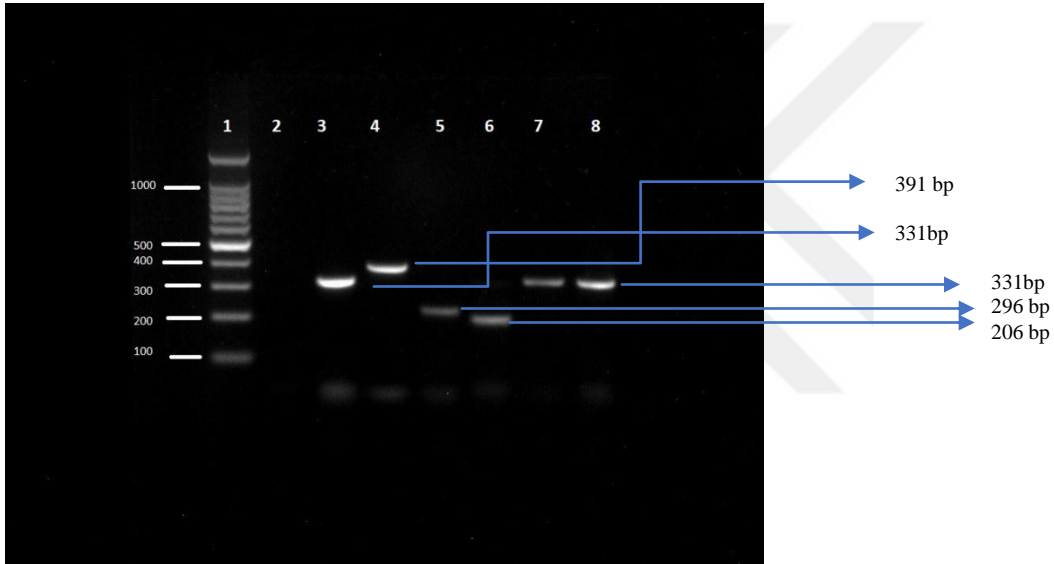
Resim 4-5: Cins düzeyinde spesifik PCR.

1- 100 bp DNA Ladder 2- *C. jejuni* NCTC 11168 pozitif kontrol 3- Negatif kontrol 4-9 *Campylobacter* spp. (Klinik suş)

4.4.2.2. Tür düzeyinde spesifik multipleks PCR (mPCR) sonuçları

Tür düzeyinde moleküler identifikasyon üç ayrı multipleks PCR ile yapılmıştır.

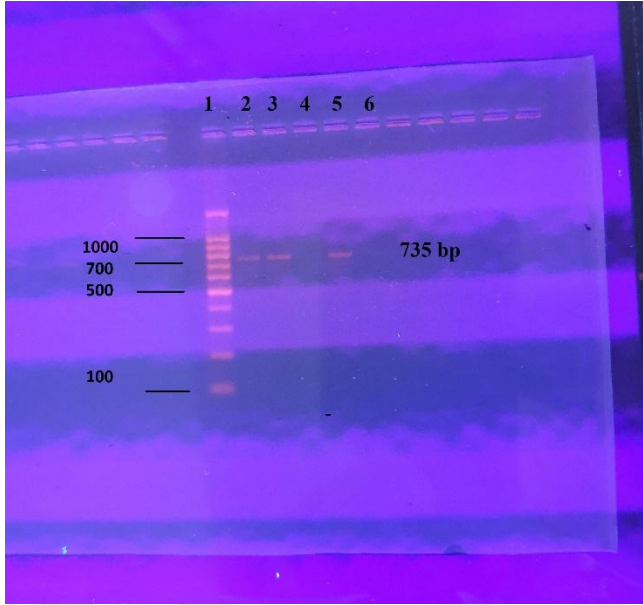
C. jejuni, *C. coli*, *C. upsaliensis* ve *C. lari* türlerinin incelendiği Multipleks-1 PCR ile hem biyokimyasal hem de moleküler olarak *Campylobacter* cinsi olduğu belirlenen 31 suşun 21'i 331 bp'lik bant oluşturarak *C. jejuni*, 9'u ise 391 bp'lik bant oluşturarak *C. coli* olarak tanımlanmıştır (Resim 4-6).



Resim 4-6: Multipleks 1 PCR.

1- 100 bp DNA ladder 2- Negatif kontrol 3- *C. jejuni* NCTC 11168 pozitif kontrol 4- *C. coli* RM2228 pozitif kontrol 5- *C. lari* RM2100 pozitif kontrol 6- *C. upsaliensis* RM3195 pozitif kontrol 7- *C. jejuni* (klinik suş) 8- *C. jejuni* (klinik suş)

Daha önce hippurat pozitif bulunan ve biyokimyasal özellikleri ile *C. jejuni* olarak tanımlanan 22 suşun birinin multipleks-1 PCR ile *C. jejuni* türüne (ve diğer türlere) spesifik bant oluşturmadığı saptanmıştır. Bu suşun hippurat genine sahip olup olmadığını göstermek amacıyla hippurikaz genine (*hipO*) spesifik PCR uygulanmış ve negatif sonuç alınmıştır (Resim 4-7).

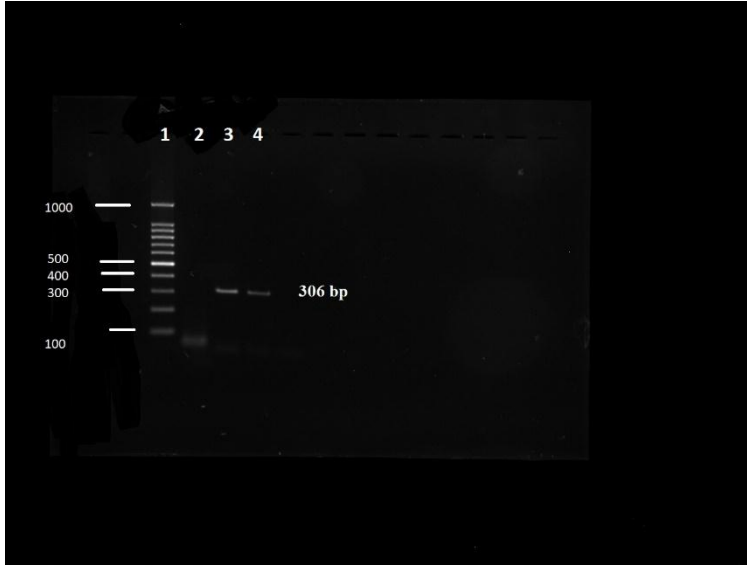


Resim 4-7: Hippurikaz (*hipO*) genine spesifik PCR.

1- 100 bp DNA ladder 2- *C. jejuni* pozitif kontrol1 3- *C. jejuni* pozitif kontrol2 4- Negatif kontrol 5- *hipO* pozitif klinik suş 6- *hipO* negatif *C. concisus* suşu

Multipleks 1 PCR ile negatif sonuç veren ve hippurat geni bulunmadığı saptanan bu suş *C. fetus*, *C. sputorum*, *C. curvus*, *C. helveticus* ve *C. mucosalis* türlerinin ayırımını sağlayan multipleks 2 PCR ile çalışılmış ve negatif sonuç alınmıştır.

Multipleks 1 ve Multipleks 2 PCR ile tanımlenemeyen bu suş *C. concisus* ve *C. mucosalis* türlerinin ayırımını sağlayan Multipleks 3 PCR ile çalışılmış ve multipleks 3 PCR ile 306 bp'lik bant oluşturularak *C. concisus* türü olarak tanımlenmiştir (Resim 4-8).



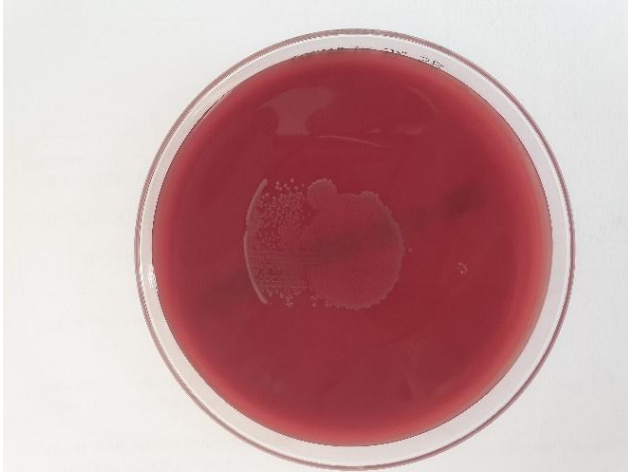
Resim 4-8: Multipleks 3 PCR.

1- 100 bp DNA ladder 2- Negatif kontrol 3- *C. concisus* pozitif kontrol (RM5485) 4- *C. concisus* pozitif klinik suş.

4.4.3. İzole edilen *Campylobacter concisus* suşu: Hastaya ve suşa ait özellikler

Çalışmamızda konvansiyonel yöntemlerle izole edilen ve moleküler yöntemlerle *C. concisus* olarak tanımlanan suş; kusma, halsizlik, karın ağrısı ve ishal şikayetleriyle İstanbul Tıp Fakültesi hastanesi Acil Birimine başvuran 61 yaşındaki bir kadın hastanın dışkılarından izole edilmiştir. Geçmişinde laparoskopik kolesistektomi, diyabet, kabızlık, tansiyon, kalp ritim bozukluğu, hipotiroidi ve atriyal fibrilasyonu olan hastanın ishalinin günde üç kez, kanlı ve kötü kokulu olduğu belirtilmiştir. CRP'si 96 bulunan hastanın yarı katı özellikteki dışkılarında yapılan rutin mikrobiyolojik incelemede polimorf nüveli lökosit saptanmıştır. Hasta, metronidazol ve siprofloksasin tedavisi başlanarak taburcu edilmiştir. Rutin dışkı kültüründe *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia* ve *Vibrio* cinsi bakteri saptanmamıştır. İzole edilen *Campylobacter* suşu eritromisine duyarlı, siprofloksasine dirençli bulunmuştur.

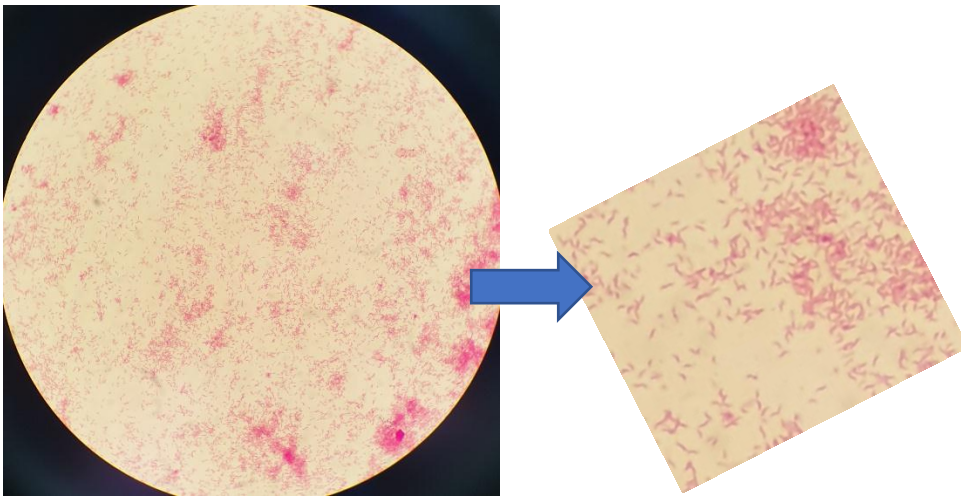
C. concisus suşu, hem hidrojen zengin mikroaerofilik ortamda inkübe edilen filtrasyon tekniğinin uygulandığı kanlı agarda (TBA) (Resim 4-9) ve mCCDA besiyerinde hem de mikroaerofilik ortamda inkübe edilen mCCDA ve Butzler selektif besiyerinde üremiştir.



Resim 4-9: *C. concisus* suşu; filtrasyon yöntemi ile üreme.

Uygulanan konvansiyonel biyokimyasal deneyler sonucunda izole edilen *C. concisus* suşu (Resim 4-10); hippurat hidrolizi pozitif (yalancı pozitif), TSI (üç şekerli demir besiyeri)'de H₂S üretimi negatif, indoksil asetat hidrolizi pozitif, H₂ gereksinimi negatif, katalaz negatif, nitrat redüksiyonu pozitif, pirazinamidaz varlığı pozitif, H₂S strip testi pozitif, üre hidrolizi negatif, 25 °C'de üreme negatif, 42 °C'de üreme pozitif, %1 glisin'de üreme pozitif, MacConkey'de üreme negatif, sefalotin ve nalidiksik aside dirençli bulunmuştur.

Suş ApiCampy kiti ile de çalışılmış ancak kitin sınırlı sayıda türü tanımlayabilmesi nedeniyle suş bu yöntemle identifiye edilememiştir.



Resim 4-10: *C. concisus* suşunun mikroskopik görünümü.

Sonuç olarak çalışmamızda klasik ve filtrasyon tekniğinin uygulandığı kültür yöntemleri ile 31 (%6,2) *Campylobacter* cinsi bakteri izole edilmiştir. İzole edilen 31 *Campylobacter* spp. suşuna uygulanan multipleks PCR deneyleri sonucunda suşların 21 (%67,8)'inin *C. jejuni*, 9 (%29)'unun *C. coli* ve birinin (%3,2) *C. concisus* olduğu saptanmıştır.



5. TARTIŞMA

Campylobacter cinsi bakteriler, dünya genelinde besin kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlarda en sık izole edilen bakteriler arasında yer alır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının büyük kısmından *C. jejuni* sorumludur. *C. coli*, ikinci sıklıkta izole edilen türdür ve bu iki tür *Campylobacter* enfeksiyonlarının %95'inden sorumludur (39).

Halen devam eden taksonomik çalışmalar sonucunda *Campylobacter* cinsi içinde yer alan tür sayısı giderek artmaktadır; bugün için 33 tür ve 14 alttürü olduğu bildirilmektedir (59).

C. jejuni ve *C. coli* dışındaki türlerin de hastalıklarla ilişkili olduğunun bildirilmeye başlanması ile birlikte yeni ortaya çıkan *Campylobacter* türlerinin insan ve çeşitli hayvan enfeksiyonlarındaki (gastrointestinal ve gastrointestinal dışı) rolleri daha detaylı olarak incelenmeye başlamıştır (41).

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde rutin dışkı kültürünün yapıldığı klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının bir çoğunda, *Campylobacter* cinsi bakteriler güç üreme özellikleri nedeniyle ya hiç araştırılmamakta ya da bu bakterilerin rutin olarak araştırıldığı laboratuvarlarda *Campylobacter* izolasyonu genellikle *C. jejuni* ve *C. coli*'nin izolasyonuna yönelik kültür koşullarının (selektif besiyeri, 42 °C'de inkübasyon ve %5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂ içeren mikroaerofilik ortam) sağlanmasıyla gerçekleştirilmektedir (21, 80).

Ancak, termofilik türlerin üremesine olanak sağlayan bu koşullar; genellikle antibiyotik içeren selektif besiyerlerinde inhibe olan, 42 °C'de üreyemeyip 37 °C'de üreyebilen, hidrojen açısından zenginleştirilmiş mikroaerofilik ortama ve daha uzun inkübasyon süresine gereksinim duyan *C. jejuni/coli* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin üremesini desteklememektedir (21, 42).

Klasik kültür yöntemlerindeki yetersizlikler, epidemiyolojik farklılıklar, veri eksikliği gibi nedenler araştırmacıları yeni türlerin izolasyonu için farklı kültür tekniklerini kullanmaya yönlendirmiştir (41, 57). Bunların başında membran filtrasyon tekniği gelmektedir. Klasik kültür yönteminin aksine antibiyotiksiz kanlı besiyeri kullanılarak uygulanan filtrasyon tekniği esasen 1970'li yıllardan beri *Campylobacter*

izolasyonu için kullanılan bir yöntemdir (5, 70). Filtrasyon tekniğinin uygulandığı ve *C. jejuni/coli* ve/veya diğer türlerin araştırıldığı çalışmalarda genellikle inkübasyon ortamı olarak %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂ içeren mikroaerofilik ortam kullanılmış ve bazılarında farklı inkübasyon sıcaklıkları denenmiştir (5, 57).

Güney Afrika'da bir hastanede 1990 yılından beri termofilik türlerin haricindeki birçok *Campylobacter* türünün kültür ile izolasyonunu destekleyen farklı bir yöntem (Cape Town protokolü) kullanıldığı bildirilmiş ve sonuçları itibariyle ilgi çekmiştir (39, 41, 42). Bu yöntemde de *Campylobacter* izolasyonunda antibiyotik içermeyen kanlı besiyeri kullanılarak membran filtrasyon tekniği uygulanmakta ve inkübasyon 37 °C'de yapılmaktadır ancak bu protokolda diğerlerinden farklı olarak inkübasyon ortamı olarak hidrojenden zenginleştirilmiş mikroaerobik ortam kullanılmaktadır (41). Böylelikle antibiyotik içermeyen besiyerlerinin kullanımı ile antibiyotiğe duyarlı *Campylobacter* suşlarının ve hidrojenden zengin inkübasyon ortamında da *C. jejuni/coli* dışındaki türlerin üremesine olanak sağlandığı bildirilmektedir. Lastovica AJ (42), bu protokolün uygulandığı Cape Town Red Cross Çocuk Hastanesi'nde ishalleri çocukların dışkılarından daha önce konvansiyonel yöntemlerle (mikroaerobik koşullar altında ve selektif besiyeri kullanılarak) elde edilen %7.1 oranındaki *Campylobacter* izolasyonunun %21.8'e yükseldiğini bildirmiştir. Güney Afrika'daki bu laboratuvarında 1990-2007 yılları arasında ishalleri çocuklardan toplam 6,006 mikroaerofilik bakteri (*Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, CLO/HLO) izole edildiği ve bunların 5567 (%92,69)'sinin *Campylobacter* cinsinden bakteri olduğu bildirilmiştir. Mikroaerofilik bakteriler içerisinde *C. jejuni* ve *C. coli* izolasyon oranları sırasıyla %39,75 ve %3 olarak saptanırken, *C. jejuni/coli* dışındaki türler %49,93 gibi yüksek bir oranda bildirilmiştir. *C. concisus*'un, *Campylobacter* türleri arasında ikinci en sık (%25) izole edilen tür olduğu belirtilen çalışmada, *C. upsaliensis* %23.5, *C. hyointestinalis* %0.95, *C. fetus* subsp. *fetus* %0.15, *C. curvus*, *C. rectus* ve *H. rappini* %0.15, *C. sputorum* biovar *sputorum* ve *C. lari* ise %0.12 oranında saptanmıştır (39).

Benzer şekilde, Vandenberg ve ark. (77), Belçika'da 1995-2002 yılları arasında dışkı kültürlerinde rutin olarak *Campylobacter* ve benzeri bakterileri araştırdıkları çalışmalarında, *Campylobacter* izolasyonuna yönelik olarak filtrasyon yöntemi uygulamışlar ve ayrıca antibiyotikli selektif besiyeri (Butzler) kullanmışlardır. Hidrojen gazı da bulunan bir mikroaerobik ortamda (5% O₂, 6% H₂, 10% CO₂, 79% N₂)

filtrasyon uyguladıkları antibiyotiksiz besiyerini 37 °C’de, selektif besiyerini ise 42 °C’de inkübe etmişlerdir. Araştırmacılar sekiz yıllık süreçte izole ettikleri 1906 *Campylobacter* ve benzeri (*Arcobacter* ve *Helicobacter* dahil) mikroaerofilik bakterinin %77.2’sinin *C. jejuni*, %11.4’ünün *C. coli* ve %4.5’inin *C. upsaliensis* olduğunu ve ayrıca daha az sayıda diğer *Campylobacter* türlerinin (27 *C. concisus* [%1.4], 11 *C. fetus* [%0.6], 9 *C. curvus* [%0.5], 3 *C. lari* [%0.2] ve 2 *C. hyointestinalis* [%0.1], 1 *C. sputorum* [%0.1]) de izole edildiğini bildirmişlerdir.

Danimarka’da yapılan bir başka çalışmada Nielsen ve ark. (61) iki yıllık bir süreçte 11,314 ishali dışkı örneğini selektif besiyeri (mCCDA) ve filtrasyon tekniği ile normal mikroaerobik ortam kullanarak *Campylobacter* spp. açısından taramışlardır. Dışkıların 541’inde *C. jejuni/coli* ve neredeyse *C. jejuni/coli* kadar yüksek bir sayıda *C. concisus* (n:441) saptayarak *C. concisus* insidansının beklenenden çok yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca az sayıda *C. curvus* (n:5) ve *C. upsaliensis* (n:2)’in de izole edildiği bildirilen bu çalışmada *C. jejuni/coli* dışındaki türlerin sadece filtrasyon yöntemi ile izole edildiği belirtilmiştir.

Yapılan bu geniş kapsamlı çalışmalar *C. jejuni/coli* dışındaki *Campylobacter* türlerinin ishali hastalarda göz ardı edilemeyeceğini ancak bu türlerin izolasyonu için uygun kültür ortamlarının sağlanmasının gerekliliğini göstermiştir.

Lastovica ve ark. (40) Cape Town protokolünün, selektif besiyerlerinin kullanıldığı konvansiyonel yöntemlere göre daha pratik, verimli ve uygun maliyetli bir yöntem olduğunu ve bu yöntemin klasik kültür yöntemi için bir alternatif olabileceğini bildirmiştir. Nielsen ve ark. (62) da dışkıdan *Campylobacter* izolasyonunda filtrasyon yönteminin selektif (mCCDA) besiyeri kadar verimli olduğunu ve tüm *Campylobacter* türlerinin izolasyonuna yönelik alternatif bir yöntem olmasının yanında yeni ortaya çıkan *Campylobacter* (ve ayrıca *Arcobacter*) türlerinin izolasyonunu arttırdığını vurgulamışlardır.

Bu konuda farklı görüşler öne süren çalışmalar da mevcuttur. Kulkarni ve ark. (38), normal mikroaerobik inkübasyon ortamında gerçekleştirdikleri çalışmalarında membran filtrasyon yönteminin duyarlılığının diğer yöntemlere kıyasla daha düşük olduğunu ve tanı laboratuvarlarında *Campylobacter* türlerinin izolasyonuna yönelik kullanılmasının uygun olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bunun aksine hidrojen bakımından zenginleştirilmiş inkübasyon ortamı kullanan ve *Campylobacter* spp. izolasyonunda

filtrasyon yöntemi ve selektif besiyerinin yer aldığı klasik kültür yönteminin birlikte kullanılmasını öneren çalışmalar da mevcuttur (5, 18).

Çalışmamızda kullanılan farklı besiyerlerinin inkübasyonu, hem *C. jejuni/coli* kültürü için rutin olarak kullanılan mikroaerobik ortamda (%5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂) hem de *C. jejuni/coli* dışındaki H₂ gereksinimi gösteren türlerin izolasyonu için özel olarak hazırlanmış hidrojen bakımından zengin gaz karışımının (%1,5 O₂, %7 H₂, %10 CO₂ ve %81,5 N₂) kullanıldığı ortamda yapılmıştır. Ayrıca kullanılan Butzler ve mCCDA selektif besiyerleri *C. jejuni/coli* için belirlenen klasik kültür yöntemi doğrultusunda rutin mikroaerobik ortamda 72 saat inkübe edilirken, geç üreyen türlere yönelik olarak mCCDA ve filtrasyon tekniği ile ekim yapılan kanlı agar (TBA) besiyerleri hidrojen zengin mikroaerofil ortamda 6 gün inkübe edilmiştir. Deneyler sonucunda 31 *Campylobacter* suşunun tamamı (21 *C. jejuni*, 9 *C. coli* ve 1 *C. concisus*) filtrasyon yöntemi ile izole edilmiştir. Mikroaerobik ortamda inkübe edilen Butzler besiyerinde 30 suş izole edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte (p>0.05) filtrasyon yöntemine yakın sonuç alınmıştır. Hidrojensiz ve hidrojenli ortamda inkübe edilen mCCDA besiyeriyle ise filtrasyon yöntemine ve Butzler besiyerine göre daha düşük izolasyon (sırasıyla 25 ve 26 suş) elde edilmiştir.

Yapılan çalışmaların çoğunda klasik kültür yöntemlerinin *C. coli/jejuni* dışındaki diğer birçok *Campylobacter* türünün izolasyonu için uygun olmadığı vurgulanmaktadır (18, 62). Ayrıca yeni ortaya çıkan *Campylobacter* türlerinden biri olan *C. concisus*'un optimal üremesi için hidrojenli ortama gerek olduğu (21) ve hidrojen oranının artırılmasının *C. concisus* izolasyonunu artırdığı bildirilmektedir (11). Bu nedenle izole ettiğimiz *C. concisus* suşunun hem filtrasyon yöntemi hem de hidrojenli ve hidrojensiz ortamda inkübe edilen diğer besiyerlerinde üremesi beklemediğimiz bir sonuç olmuştur. Bununla birlikte *Campylobacter* türlerinin saptanmasında kültür ve moleküler yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada sonuçlarımıza benzer şekilde bir *C. concisus* suşunun hem selektif besiyeri hem de filtrasyon yöntemi ile izole edildiği bildirilmiştir (38).

Çalışmamızda filtrasyon yöntemi ile en yüksek izolasyon sağlanmış olmakla birlikte rutin laboratuvar koşulları gözönüne alındığında bu yöntemin selektif besiyeri kullanımına kıyasla daha zaman alıcı bir yöntem olduğu görülmüştür. Çalışmamızda karşılaştığımız bir diğer zorluk da H₂ içeren mikroaerobik ortam sağlayan gaz kitlerinin

ülkemizde ticari olarak sağlanamaması ve bu nedenle çalışmamız için özel olarak %7 H₂ içeren gaz karışımının özel olarak hazırlanması olmuştur. Bu zorluk hidrojen içeren mikroaerobik ortam sağlayan ticari kitlerin kullanılması veya istenilen oranlarda mikroaerobik gaz karışımı hazırlayan cihazlar kullanılarak aşılabılır.

Son yıllarda, moleküler biyolojik yöntemlerin gelişmesine paralel olarak, *C. jejuni/coli* dışı diğer *Campylobacter* türlerinin araştırılmasında moleküler yöntemler tercih edilmektedir. Bullman ve ark. (8)'nin yaptıkları bir çalışmada ishalleri hasta dışkılarında *Campylobacter* cinsi bakterilerin varlığı kültür yöntemi ve moleküler yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Araştırmacılar, otomatize multipleks PCR ile *Campylobacter* saptadıkları 436 dışkı örneğinin kültürünü yaptıklarında örneklerin yarısına yakınında (%46.8) *Campylobacter* izole edememişlerdir. Daha sonra *Campylobacter*'e spesifik uniplex PCR ve 16S rRNA analizi ile kültür negatif 204 örneğin 191'inde (%93.6) *Campylobacter* DNA'sının varlığını doğrulamışlar ve tür düzeyinde tanımlama yapmışlardır. Bu çalışmada diğer çalışmalarla benzer olarak *C. jejuni* (%50)'nin en sık saptanan tür olduğu, yeni önem kazanan türlerden biri olan *C. ureolyticus*'un olguların %41.9'unda pozitif bulunarak *C. coli* (%5.8)'den daha yüksek oranda saptandığı ayrıca, *C. fetus*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* ve *C. lari*'nin kültür negatif örneklerin %10'unda gösterildiği bildirilmiştir.

Collado ve ark. (13) selektif besiyeri ve ayrıca filtrasyon yöntemini de içeren konvansiyonel ve ayrıca moleküler yöntemleri kullanarak insan dışkı örneklerinde yeni önem kazanan *Campylobacter* türlerini araştırmışlardır. *C. jejuni* ve *Arcobacter butzleri* hem konvansiyonel yöntemler hem de moleküler yöntemlerle tanımlanırken, *C. concisus* ve *C. ureolyticus* türleri sadece doğrudan dışkı örneklerine uygulanan moleküler yöntemlerle saptanabilmiştir. Çalışmada, *C. concisus*'un %11.4, *C. jejuni*'nin %10.7, *C. ureolyticus*'un %3.6 ve *A. butzleri*'nin ise %1.4 oranlarında saptandığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, araştırmacılar tespit edilen tüm türler arasında sadece *C. jejuni* ve *C. concisus*'un ishal ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

2014 yılında, Platts-Mills ve ark. (65), Tanzania, Bangladeş ve Peru'da ishalleri çocuklarda gerçekleştirdikleri çok merkezli bir çalışmada EIA, PCR ve kültür yöntemini kullanarak dışkı örneklerinde *C. jejuni/C. coli* ve diğer *Campylobacter* türlerini araştırmışlardır. Kültür yönteminin duyarlılığını, PCR ve EIA yöntemleri ile karşılaştırdıklarında sırasıyla %8.5 ve %8.7 olarak saptamışlardır. Ayrıca EIA pozitif

örneklerin çoğunun (%71.6) PCR ile de pozitif sonuç verdiğini ancak bunların %27.6 (n:53)'sının PCR ile *C. jejuni/coli* dışında türler olarak belirlendiğini bildirmişler ve EIA yöntemi ile pozitif bulunan 53 suşu 16S rRNA dizi analizi ile *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* (%56), *C. troglodytis* (%33), *C. upsaliensis* (%7.7) olarak tanımlanmışlardır. Araştırmacılar gelişmekte olan ülkelerde bebeklerde PCR yöntemi ile oldukça yüksek pozitiflik oranları elde edildiğini belirterek *C. coli/ jejuni* dışındaki türlerin önemini vurgulamışlar ve yüksek duyarlılığa sahip olması, hastalık yükünü tespit edebilmesi ve ayrıca *Campylobacter* enfeksiyonlarını tür düzeyinde ayırt edebilmesi nedeniyle PCR kullanımını önermişlerdir.

Cornelius ve ark. (14) tarafından *Epsilonproteobacteria*'ların etken ya da kommensal flora elemanı olarak rollerini incelemek amacıyla sağlıklı gönüllü ve ishalleri hasta dışkılarında PCR-DGGE yöntemi ile yapılan bir çalışmada, *C. upsaliensis/helveticus* ve *C. rectus/showae* sağlıklı gönüllülerin örneklerinde saptanmamış, sadece ishalleri hasta dışkılarında gösterilmiştir. Buna karşılık hem hasta hem de kontrol grubunda saptanmış olan *C. hominis*, *C. gracilis*, *C. ureolyticus*, *C. concisus*'un ishal etkeni olmadığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada ayrıca gönüllü dışkılarında az sayıda *C. jejuni/coli* varlığı da gösterilmiş olup bu durum gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülen asemptomatik taşıyıcılıkla ilişkilendirilmiştir. Bunun yanında hem sağlıklı hem hasta grubundan izole edilen *C. concisus* suşlarının ileri incelemelerinde fenotipik olarak ayırt edilemeyen ancak genetik olarak farklı suşlarının (genomotür) bulunduğu bildirilmesi nedeniyle bu suşların patojenik potansiyellerinde de farklılık olabileceği ileri sürülmüştür (14, 34).

Bizim çalışmamızda ise incelenen 100 sağlıklı kontrolün dışında *C. jejuni*, *C. coli* veya diğer *Campylobacter* türleri saptanmamıştır.

Campylobacter cinsi bakterilerin kültür yöntemi ile araştırıldığı ve moleküler yöntemler dışındaki identifikasyon yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda genellikle kullanılan konvansiyonel biyokimyasal yöntem veya ticari tanı kitinin olanakları ölçüsünde izole edilen suşun tür tanısı yapılabilmektedir. Tanımlanan türler başta *C. jejuni* olmak üzere *C. coli* ve ek olarak birkaç *Campylobacter* türünü kapsamaktadır. Sofya'da gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında *Campylobacter* spp.'nin önemini incelediği geniş çaplı bir çalışmada enfeksiyon etkeni *Campylobacter* türlerinin %75'i *C. jejuni*, %22'si *C. coli* olarak saptanmış ve %3'ü ise tür düzeyinde

identifikasyonun yapılamaması nedeniyle diğer *Campylobacter* spp. olarak bildirilmiştir (30). İlkaç ve ark. (28), çalışmaya dahil ettikleri 341 *Campylobacter* susun 300 (%88)'ünü *C. jejuni*, 37 (%10.8)'sini *C. coli*, dördünü (%1.2) *C. jejuni/coli* dışı diğer türler şeklinde identifiye etmişlerdir. Bu çalışmalarda *C. jejuni/coli* haricindeki türlerin identifiye edilememesinin sebebi ya yukarıda belirtildiği gibi identifikasyonda fenotipik ve biyokimyasal yöntemlerin kullanılması ve bu yöntemlerin tür düzeyinde identifikasyonda yetersiz kalması ya da moleküler yöntemler kullanıldığında bile sadece *C. jejuni/coli* araştırılacak şekilde amaca yönelik bir protokolün kullanılmış olmasıdır.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında *Campylobacter* türlerinin rutin tanısı, genellikle selektif besiyerlerinin kullanıldığı kültür yöntemi ile izolasyon ve sonrasında fenotipik ve biyokimyasal yöntemlerle identifikasyona dayanmaktadır. *Campylobacter* türlerinin bir çoğunun biyokimyasal olarak inaktif olmaları fenotipik ve biyokimyasal tanımlamayı güçleştirmektedir. İdentifikasyonda pratik olan ve ayrıca doğru identifikasyonu sağlayacak biyokimyasal testler çok sınırlıdır. Bu testlerden en önemlisi *C. jejuni*'yi diğer türlerden ayıran hippurat hidrolizi testidir. Ancak *C. jejuni*'nin ayırımında kullanılan hippurat testinin, hippurat negatif özellik gösteren *C. jejuni* türlerinin identifikasyonunda başarısız kalabildiği bildirilmektedir. Ayrıca, *C. jejuni* dışındaki bazı türlerin de bu testle yalancı pozitif sonuç verdikleri belirtilmiştir (19, 21, 25). Al Amri ve ark. (1), hippurat hidrolizi deneyi sonuçlarını hipurikaz geninin araştırıldığı multipleks PCR yöntemi ile karşılaştırmışlar ve hippurat hidrolizi deneyi ile 74 *Campylobacter* izolatının 17'sinin yalancı pozitif, yedisinin ise yalancı negatif sonuç verdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar hippurat hidrolizi testinin pozitif prediktif değerini %83, negatif prediktif değerini ise %35 olarak bildirmişlerdir.

İstanbul'da ve akut gastroenteritli hastalardan izole edilen 341 *Campylobacter* izolatı ile yapılan bir diğer çalışmada da *C. jejuni* suşlarının identifikasyonunda kullanılan hippurat hidrolizi testinin suşların %3 (n:10)'ünde yalancı negatif, %9.4 (n:32)'ünde ise yalancı pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir (28). Benzer şekilde diğer birçok çalışmada *C. jejuni*'nin tür düzeyinde identifikasyonunda hipurikaz genine spesifik PCR yönteminin hippurat hidrolizi deneyine göre daha doğru ve güvenilir sonuç verdiği belirtilmiştir (9, 25, 46).

Çalışmamızda da, yalancı negatiflik saptanmamış olmakla birlikte, 31 *Campylobacter* suşunun birinde konvansiyonel hippurat testinin yalancı pozitif sonuç

verdiği görülmüştür. Tür düzeyinde mPCR ile tanımladığımız *C. concisus* suşunun konvansiyonel hippurat hidrolizi deneyi ile pozitif sonuç vermesini takiben, PCR yöntemiyle hippurikaz geninin varlığı araştırılmış ve suşun hippurikinaz genine sahip olmadığı belirlenmiştir.

Campylobacter türlerinin identifikasyonunda hippurat hidrolizinin dışında indoksil asetat hidrolizi, pirazinamidaz hidrolizi, nitrat hidrolizi, H₂S üretimi, üre hidrolizi gibi çeşitli biyokimyasal testler kullanılmaktadır. Çok fazla testin uygulanması gerekliliği identifikasyon süresini uzatmakta ve ayrıca birçok *Campylobacter* türünün biyokimyasal olarak inaktif olması ve bazı özelliklerin değişken olması türler arasında ayrımı zorlaştırmaktadır (21, 52). Buna ek olarak, *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılan otomatize ve yarı otomatize ticari sistemlerin genellikle düşük duyarlılığa sahip olması, *C. jejuni* ve *C. coli* dışında sınırlı sayıda türün identifikasyonuna olanak sağlaması gibi nedenlerle bu yöntemler de tür düzeyinde identifikasyonda yetersiz kalmaktadır. (19, 56).

Fenotipik yöntemler ve ticari sistemler ile tür düzeyinde identifikasyonun belirtilen dezavantajları nedeniyle identifikasyonun moleküler yöntemlerle yapılması önerilmektedir. Ancak, moleküler yöntemler günümüzde epidemiyolojik çalışmalar için kullanılıyor olsa da bu yöntemlerin her klinik mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanabilir özellikte olmaması nedeniyle rutin laboratuvarlarda tür düzeyinde identifikasyon hâlâ biyokimyasal özelliklerin değerlendirildiği şematik tablolar kullanılarak yapılmaya çalışılmaktadır. Esasen tanı laboratuvarlarında genel olarak hippurat hidrolizi testi kullanılarak *C. jejuni* identifiye edilmekte ve hippurat hidrolizi negatif saptanan suşlarda çoğunlukla tür düzeyinde ayırımı gidil(e)memektedir.

Çalışmamızda fenotipik yöntemle identifikasyon amacıyla temel referans olarak Lastovica ve ark. (39)'nın hazırladığı biyokimyasal özellikleri içeren tablolar alınmış ayrıca Fitzgerald ve ark. (21) ile Procop ve ark. (66)'nın önermiş olduğu biyokimyasal identifikasyon şemalarından da yararlanılmıştır. *C. concisus* dışındaki 30 suşun (21 *C. jejuni* ve 9 *C. coli*) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri (katalaz varlığı, hippurat hidrolizi, indoksil asetat hidrolizi, nitrat redüksiyonu, pirazinamidaz varlığı, H₂S üretimi, üre hidrolizi, üç şekerli demirli besiyerinde H₂S üretimi, 25 °C ve 42 °C'de üreme, H₂ gereksinimi, %1 glisin'de ve MacConkey'de üreme) değişken sonuçları da kapsayarak genellikle tür özellikleri ile uyumlu bulunmuştur. Ancak elde ettiğimiz

verilere göre bunun anlamı bu özelliklerin çoğunun sadece biyokimyasal identifikasyon yapıldığında tür ayırımında yeterli olmadığıdır.

Dokuz *C. coli* suşunun tamamı ve 21 *C. jejuni* suşunun 16'sı nalidiksik aside dirençli bulunmuştur. Tür ayırımında kullanılan nalidiksik asit (ve ayrıca sefalotin) duyarlılığı farklı kaynaklara göre değişkenlik göstermektedir. Ayrıca ülkemizde *Campylobacter* suşlarının yüksek oranda kinolon direncine sahip olmasının nalidiksik asidin *Campylobacter* türlerinin ayırımında kullanılmasını olanaksızlaştırdığı görülmüştür. (27, 35, 64).

Yirmi bir *C. jejuni* suşunun biri ve dokuz *C. coli* suşunun ikisi pirazinamidaz negatif olarak saptanmış ve tür özellikleri ile uyumlu bulunmamıştır. Bu durum pirazinamidaz testinde yarıkatı besiyerinin kullanılması nedeniyle pozitif test sonucunda oluşması beklenen halkanın besiyerine yayılarak negatif sonuç olarak değerlendirilmiş olabileceğini ya da tüm *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarında bu testin pozitif olmayabileceğini düşündürmüştür.

C. jejuni suşlarının (n:21) MacConkey'de üreme özelliği de değişken sonuçları kapsayacak şekilde uyumlu iken *C. coli* (n:9) suşlarının tamamı tür özelliğinin aksine bu besiyerinde ürememiştir.

Çalışmamızda tür ayırımını sağlayabilmek ve identifikasyonda biyokimyasal testlerin kullanılabilirliğini test etmek amacıyla izole edilen suşların çok sayıda biyokimyasal özelliği incelenmiştir. Bununla birlikte *Campylobacter* türlerinin bir çok özelliğinin değişken olması ve kesin olarak tür ayırımını sağlayabilecek özelliğinin az olması sonucunda konvansiyonel yöntemlerle yapılan biyokimyasal identifikasyonun hem zahmetli hem de tür ayırımında yetersiz kaldığı görülmüştür. Nitekim izole ettiğimiz hippurat pozitif özellikteki *C. jejuni* suşları dışında *C. coli* ve *C. concisus* suşlarının tür düzeyinde identifikasyonları türe spesifik primerlerin kullanıldığı üç ayrı mPCR yöntemiyle sağlanabilmiştir. Ayrıca çalışmamızda moleküler identifikasyonun yapılmadığı durumda hippurat pozitif saptanan *C. concisus* suşunun yanlışlıkla *C. jejuni* olarak identifiye edilebileceği görülmüştür. Genel olarak *C. jejuni* dışındaki diğer *Campylobacter* türlerinin tanısında biyokimyasal yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda moleküler yöntemlerin kullanılmasının daha güvenilir olduğu kanısına varılmıştır.

C. concisus, insanlarda gastrointestinal sistemde yeni önem kazanan bir türdür. Bugüne kadar elde edilen veriler insanın *C. concisus*'un doğal konağı olduğunu ve ağız boşluğunun bu türün primer kolonizasyon bölgesi olduğunu göstermektedir. Önceleri daha çok periodontitli hastaların ağız boşluğu ve dişeti iltihabından izole edilen *C. concisus*'un bugün oral enflamatuvar hastalıklardaki rolü henüz netlik kazanmamıştır. Son yıllarda *C. concisus*'un gastroözofageal reflü hastalığı ve Barrett özofagusu ile ilişkili enflamasyona katkısının olduğu, ayrıca enflamatuvar bağırsak hastalığının (IBD) gelişiminde rol oynadığı ileri sürülmektedir (48). Buna ek olarak *C. concisus*'un ishalleri hasta dışkılarında artan oranda bildirilmeye başlamasıyla akut gastroenteritlerdeki rolü gündeme gelmiştir (34).

C. concisus'un etken olarak tespit edildiği çalışmalar bu türün akut bağırsak hastalıklarındaki rolünü destekler niteliktedir. Lastovica ve ark. (40), çocuk hastalarda *C. concisus*'u, *C. jejuni*'den sonra ikinci en sık *Campylobacter* türü olarak izole ettiklerini bildirmişlerdir. Collado ve ark. (13), Şili'de 140 ishalleri hasta ve 116 sağlıklı kontrol grubunda gerçekleştirdikleri çalışmalarında *C. concisus*'un ishallerle ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde, Nackhamkin ve ark. (60), *C. concisus* izole ettikleri sekiz hastanın klinik özelliklerini de göz önünde bulundurarak hastaların ikisinde *C. concisus*'u ishallerle ilişkilendirmişlerdir.

Danimarka'da yapılan bir çalışmada ise *C. concisus* için *C. jejuni/coli*'ye yakın oranda yüksek bir insidans bildirilmiştir. *C. concisus*'un, *C. jejuni/coli* gibi çocuklarda sık olmak üzere her yaş grubunda izole edildiğini ancak *C. jejuni/coli*'den farklı olarak bebekler ve yaşlı bireylerde de sık saptandığını belirten araştırmacılar sağlıklı kontrollerde *C. concisus* izole edilmediğini bildirmişlerdir (61).

2016 yılında Underwood ve ark. (75), kantitatif PCR ile yaptıkları çalışmalarında Avustralya'da akut gastroenteritli hastalarda *C. jejuni*'ye göre (~%5) *C. concisus*'un yüksek (%49.7) prevalansa sahip olduğunu ve *C. concisus* pozitif olguların %78'inde bu bakterinin tek etken olarak tespit edildiğini göstermişler ve *C. concisus* 'un gastroenterit gelişiminde potansiyel bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Ancak sağlıklı bireylerden de izole edilmesi sebebiyle *C. concisus*'un ishal ile ilişkili olmadığını savunan araştırmacılar da bulunmaktadır (14, 29, 74, 76).

Çalışmamızda ise dışkısında *C. concisus* saptadığımız hasta; diyabet ve kardiyak hastalıklar gibi altta yatan çok sayıda kronik hastalığı olan, günde üç kez, kanlı, kötü kokulu ishali nedeniyle Acil servise başvuran klinik ve laboratuvar (CRP yüksekliği, dışkı PNL pozitifliği, vb.) enfeksiyon bulgularına dayanarak hastaya antibiyotik tedavisi başlanan 61 yaşında bir kadın hastadır. Hasta ile sonradan yapılan görüşmede, ishalinin yedi gün içinde sonlandığı öğrenilmiştir. Şiddetli ishali olan bu hastada rutin dışkı kültüründe araştırılan enteropatojen bakterilerin (*Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia* ve *Vibrio* spp.) üremeyip *C. concisus*'un tek etken olarak saptanması (ayrıca sağlıklı bireylerde bu bakteriye rastlanmaması), bu bakterinin ishalden sorumlu olduğu yönünde önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Hastadan izole edilen *C. concisus* suşu türe spesifik PCR ile identifiye edilebilmiştir. Suş birçok biyokimyasal özelliği (katalaz negatif, nitrat redüksiyonu pozitif, pirazinamidaz pozitif, H₂S strip testi pozitif, üre hidrolizi negatif, 25 °C'de üreme negatif, %1 glisinde üreme pozitif, MacConkey'de üreme negatif, sefalotin ve nalidiksik aside dirençli) ile ve yine değişken sonuçları da kapsayacak şekilde *C. concisus* türü ile uyumlu bulunmuştur. İzole edilen suş, tür özelliklerinin aksine hippurat hidrolizi pozitif, TSI'de H₂S üretimi negatif, indoksil asetat hidrolizi pozitif saptanmıştır; ayrıca 42 °C'de üreyen suş hidrojen gereksinimi göstermemiştir.

Sonuçlarımıza benzer şekilde, Nielsen ve ark. (61), izole ettikleri bazı *C. concisus* suşlarının H₂S oluşturmadığını ve indoksil asetat hidrolizinin pozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. On ve ark. (63)'ün yaptıkları bir diğer çalışmada da suşların %5'inin H₂S oluşturduğu saptanmıştır.

C. concisus'un araştırıldığı bir başka çalışmada bulgularımızla benzer olarak suşların %6'sının indoksil asetatı hidrolize edebildikleri tespit edilmiştir (76). Genel olarak, *C. concisus* suşlarının 37 °C'de 42 °C'ye göre daha iyi üredikleri belirtilmekle birlikte bazı çalışmalarda *C. concisus*'un 42 °C'de üreyebildiği, diğer bazılarında ise 42 °C'de üreme özelliğinin suşlar arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (11, 21, 66, 72).

C. concisus, üreme özelliği bakımından hidrojen açısından zenginleştirilmiş mikroaerofilik ortama ihtiyaç duyan türler arasında sınıflandırılmakla birlikte çalışmamızda saptanan *C. concisus* suşu hidrojenden zengin atmosferik ortama ek olarak hidrojen gazı içermeyen mikroaerobik ortamda da üremiştir. Benzer şekilde

Tillmanne ve ark. (74)'nın yaptıkları çalışmada *C. concisus*'un hidrojen gazı içermeyen mikroaerofilik ortamda izole edildiği bildirilmiştir.

Üremeleri için özel koşullar gerektiren ve nazlı üreyen bakteriler arasında yer alan *Campylobacter* cinsi bakterilerin tür sayısının giderek artması ve yeni türlerin de enfeksiyonlarla ilişkili olabileceğini bildiren çalışmaların çoğalması bu bakterilerin rutin tanısı ve tür düzeyinde identifikasyonunda bazı sorunları da beraberinde getirmiştir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan yöntemler en sık enfeksiyon etkeni olarak bilinen *C. jejuni* ve *C. coli* tanısına yönelik olduğundan *C. jejuni/coli* dışındaki türlerin identifikasyonunda kullanılan konvansiyonel biyokimyasal yöntemler yetersiz kalmakta ve moleküler identifikasyonun önemi giderek artmaktadır. Bununla birlikte rutin tanı yöntemleri ile genellikle tespit edilemeyen yeni önem kazanan bu türlerin epidemiyolojik olarak araştırılması, kültür yöntemleri ile birlikte moleküler yöntemlerin de kullanıldığı çalışmalarla enterik enfeksiyonlardaki rolleri ve sıklıklarının ortaya konulması önemlidir. Beş yüz hasta ve 100 sağlıklı kontrolün incelendiği çalışmamızda sadece bir hastada *C. jejuni/coli* dışında bir tür (*C. concisus*) saptanmıştır. Yeni önem kazanan *Campylobacter* türleri ile ilgili verilerin artırılması amacıyla ülkemizde farklı bölgelerde gerçekleştirilecek daha fazla epidemiyolojik çalışmaya ihtiyaç vardır. Yapılacak çalışmalarda kullanılacak yöntemlerin, dışkıdan doğrudan *Campylobacter* türlerini araştıran moleküler yöntemlerle kombine edilmesinin yararlı olacağı inancındayız.

Çalışmamız, ülkemizde *C. jejuni/coli* dışındaki yeni önem kazanan *Campylobacter* türlerinin hem konvansiyonel hem de moleküler yöntemlerle ishali hasta ve sağlıklı gönüllülerde araştırılması ve ayrıca *C. concisus*'un akut gastroenterit etkeni olduğunun gösterilmesi açısından bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Bu nedenle, çalışmamızın ileride bu alanda yapılacak çalışmalara yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Al Amri, Senok AC, Ismaeel A, Al-Mahmeed, AE, Botta GA. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. *J Med Microbiol* 2007; 56(10): 1350-1355.
2. Allos BM, Lovine NM, Blaser MJ. *Campylobacter jejuni* and related species. İçinde Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editörler. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2015. pp. 2485-93.
3. Bastyns K, Chapelle S, Vandamme P, Goossens H, De Wachter R. Specific detection of *Campylobacter concisus* by PCR amplification of 23S rDNA areas. *Mol Cell Probes* 1995; 9(4): 247-250.
4. Blackett KL, Siddhi SS, Cleary S, Steed H, Miller MH, Macfarlane S ve ark. GT, Dillon Oesophageal bacterial biofilm changes in gastro-oesophageal reflux disease, Barrett's and oesophageal carcinoma: association or causality? *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 1084–1092.
5. Bolton FJ, Hutchinson DN, Parker G. Reassessment of selective agars and filtration techniques for isolation of *Campylobacter* species from faeces. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7(2): 155-160.
6. Bullman S, Corcoran D, O'leary J, Lucey B, Byrne D, Sleator RD. *Campylobacter ureolyticus*: an emerging gastrointestinal pathogen? *Pathog Dis* 2011; 61(2): 228-230.
7. Bullman S, Corcoran D, O'Leary J, O'Hare D, Lucey B, Sleator RD. Emerging dynamics of human *campylobacteriosis* in Southern Ireland. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011; 63(2): 248-253.
8. Bullman S, O'leary J, Corcoran D, Sleator R, Lucey B. Molecular-based detection of non-culturable and emerging *campylobacteria* in patients presenting with gastroenteritis. *Epidemiol Infect* 2012; 140(4): 684-8.

9. Burnett, TA, Hornitzky MA, Kuhnert P, Djordjevic SP. Speciating *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from poultry and humans using six PCR-based assays. *FEMS Microbiol Lett* 2002; 216(2): 201-209.
10. Butzler JP. *Campylobacter* from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 868-876.
11. Casanova C, Schweiger A, Von Steiger N, Droz S, Marschall J. *Campylobacter concisus* pseudo-outbreak caused by improved culture conditions *J Clin Microbiol* 2015; 53(2): 660-662.
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet). FoodNet Surveillance Report for 2015 (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2017.
13. Collado L, Gutiérrez M, González M, Fernández H. Assessment of the prevalence and diversity of emergent *campylobacteria* in human stool samples using a combination of traditional and molecular methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75(4): 434-6.
14. Cornelius A, Chambers, S, Aitken J, Brandt SM, Horn B, On SL. Epsilonproteobacteria in humans, New Zealand. *Emerg Infect Dis* 2012; 18(3): 510-2.
15. Costa D, Iraola G. Pathogenomics of emerging *Campylobacter* species. *Clin Microbiol Rev* 2019; 32(4): e00072-18.
16. Debruyne L, Gevers D, Vandamme P. Taxonomy of the family *Campylobacteraceae*. İçinde Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ, editörler. *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press; 2008. pp.3-25.
17. Dylan RP. Fecal Culture for *Campylobacter* and Related Organisms. İçinde Leber AL, editör. *Clinical microbiology procedures handbook*. 4th ed. Washington, DC: ASM Press, 2016; Chapter 3.8.2.
18. Enberg J, On S, Harrington C, Gerner-Smidt P. Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and *Sutterella* spp. in human fecal samples as estimated by a

reevaluation of isolation methods for *Campylobacters*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 286-91.

19. Engberg J. Contributions to the epidemiology of *Campylobacter* infections. *Dan Med Bull* 2006; 53: 361-89.

20. European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 2018; 16(12): 5500.

21. Fitzgerald C, Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. İçinde Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, editörler. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington DC: ASM Press; 2015. pp. 998-1012.

22. Fitzgerald C, Pruckler J, Karlsson M, Kwan P. The genus *Campylobacter* İçinde Goldman E, Green LH, editörler. *Practical handbook of microbiology*. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2015. pp. 691-708.

23. Fitzgerald C. *Campylobacter*. *Clin Lab Med* 2015; 35(2): 289-298.

24. Goossens H1, Giesendorf BA, Vandamme P, Vlaes L, Van den Borre C, Koeken A ve ark. Investigation of an outbreak of *Campylobacter upsaliensis* in day care centers in Brussels: analysis of relationships among isolates by phenotypic and genotypic typing methods. *J Infec Dis* 1995; 172: 1298–1305.

25. Hani EK, Chan VL. Expression and characterization of *Campylobacter jejuni* benzoylglycine amidohydrolase (Hippuricase) gene in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1995; 177(9): 2396-2402.

26. Hunt JM, Abeyta C, Tran T. *Campylobacter*. Erişim 03/26/2018, Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual (BAM). 2001. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-campylobacter>

27. Ilktac M, Aydın AS, Nazik H, Ongen B. Investigation of enteropathogens isolated in Turkey between 2011-2012 and their antibiotic susceptibilities. 5TH EURASIA CONGRESS OF INFECTIOUS DISEASES. TIRAN, ALBANIA, 15-18 MAY 2013.

28. Ilktac M, Ongen B. Molecular typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* of human strains isolated in Turkey over an eight-year period. *Clin Lab* 2020; 3 (baskıda).
29. Inglis GD, Boras VF, Houde A. Enteric *campylobacteria* and RNA viruses associated with healthy and diarrheic humans in the Chinook health region of southwestern Alberta, Canada. *J Clin Microbiol* 2011; 49(1): 209-19.
30. Ivanova K, Marina M, Petrov P, Kantardjiev T. Campylobacteriosis and other bacterial gastrointestinal diseases in Sofia, Bulgaria for the period 1987–2008. *Euro Surveill* 2010; 15(4): 1-4.
31. İlktaç M, B Öngen. *Campylobacter* enfeksiyonlarında patogenez. İçinde B Selim, A Hakan, Ö Betigül, editörler. *Enfeksiyon Patogenezi ve Bağışıklık*. İstanbul: Akademi Yayınevi; 2015. pp. 997-1014.
32. Jaime AL, Joan S, Lee B, Nancy S, Sydney MH, Eleanor L ve ark. *Campylobacter upsaliensis*: another pathogen for consideration in the United States. *Clin Infect Dis*. 2002; 34(11): e59-e60.
33. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(3): 687-720.
34. Kaakoush NO, Mitchell HM. *Campylobacter concisus*—a new player in intestinal disease. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2(4): 1-15.
35. Kayman T, Abay S, Hızlısoy, H. Identification of *Campylobacter* spp. isolates with phenotypic methods and multiplex polymerase chain reaction and their antibiotic susceptibilities. *Mikrobiyol bult* 2013; 47(2): 230-239.
36. Kim HY. Statistical notes for clinical researchers: chi-squared test and Fisher's exact test. *Rest Dent Endo* 2017; 42(2): 152-155.
37. Klena JD, Parker CT, Knibb K, Ibbitt JC, Devane PM, Horn ST ve ark. Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene lpxA. *Journ Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5549-5557.

38. Kulkarni, SP, Lever S, Logan, JMJ, Lawson AJ, Stanley J, Shafi MS. Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *Journal of clinical pathology* 2002; 55(10): 749-753.
39. Lastovica AJ, Allos BM. Clinical significance of *Campylobacter* and related species other than *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. İçinde Nachamkin CS, Blaser M, editörler. *Campylobacter* 3rd ed. Washington, DC: ASM press; 2008. pp. 123-149.
40. Lastovica AJ, le Roux E. Efficient isolation of *Campylobacter* from stools. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2798–2799.
41. Lastovica AJ, Roux EL. Optimal detection of *Campylobacter* spp in stools. *J Clin Pathol* 2003; 56: 480.
42. Lastovica AJ. Emerging *Campylobacter* spp.: the tip of the iceberg. *Clin Microbiol Newsllett* 2006; 28(7): 49-56.
43. Laughlin ME, Chatham-Stephens K, Geissler AL. Campylobacteriosis. In: Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Yellow Book 2020: Health Information for International Travel. Brunette GW, Nemhauser JB editörler. Erişim 01.08.2019, <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/campylobacteriosis>.
44. Lawson AJ, On SL, Logan JM, Stanley J. *Campylobacter hominis* sp. nov., from the human gastrointestinal tract. *Int J Syst Evol Micr* 2001; 51(2): 651-660.
45. Lee S, Lee J, Ha J, Choi Y, Kim S, Lee H ve ark. Clinical relevance of infections with zoonotic and human oral species of *Campylobacter*. *J Microbiol* 2016; 54(7): 459-467.
46. Linton D, Lawson AJ, Owen RJ, Stanley J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol* 1997; 35(10): 2568–2572.

47. Linton D, Owen RJ, Stanley J. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals. *Res Microbiol* 1996; 147(9): 707-718.
48. Liu F, Ma R, Wang Y, Zhang L. The clinical importance of *Campylobacter concisus* and other human hosted *Campylobacter* species. *Front cell infect microbiol* 2018; 8(243): 1-22.
49. Lynch ÓA, Cagney C, McDowell DA, Duffy G. Occurrence of fastidious *Campylobacter* spp. in fresh meat and poultry using an adapted cultural protocol. *Int J Food Microbiol* 2011; 150(2): 171-177.
50. Macfarlane S, Furrrie E, Macfarlane GT, Dillon JF. Microbial colonization of the upper gastrointestinal tract in patients with Barrett's esophagus. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 29–38.
51. Mahendran V, Riordan SM, Grimm MC, Tran AT, Major J, Kaakoush NO ve ark. Prevalence of *Campylobacter* species in adult Crohn's disease and the preferential colonization sites of *Campylobacter* species in the human intestine. *PloS one* 2011; 6(9): e25417.
52. Maher M, Finnegan C, Collins E, Ward B, Carroll C, Cormican M. Evaluation of culture methods and a DNA probe-based PCR assay for detection of *Campylobacter* species in clinical specimens of feces. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7) :2980-6.
53. Man SM, Zhang L, Day AS, Leach ST, Lemberg DA, Mitchell H. *Campylobacter concisus* and other *Campylobacter* species in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1008–16.
54. Man SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastro Hepat* 2011; 8(12): 669-685.
55. Manuel RA. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. İçinde Sarah SL, Larry KP, Charles GP, editörler. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 4th ed. USA: Churchill Livingstone Elsevier; 2012. pp. 873-880.

56. Martiny D, Dediste A, Debruyne L, Vlaes L, Haddou NB, Vandamme P ve ark. Accuracy of the API Campy system, the Vitek 2 *Neisseria-Haemophilus* card and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Campylobacter* and related organisms. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(7): 1001-6.
57. McClurg KR, RB McClurg, Moore JE, Dooley JSG. Efficient isolation of *campylobacters* from stools: what are we missing? *J Clin Pathol*. 2002; 55(3): 239–240.
58. Mukhopadhyaya I, Thomson JM, Hansen R, Berry SH, El-Omar EM, Hold GL. Detection of *Campylobacter concisus* and other *Campylobacter* species in colonic biopsies from adults with ulcerative colitis. *Plos One* 2011; 6(6): e21490.
59. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Medical Microbiology*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. pp. 280-286.
60. Nachamkin I, Nguyen P. Isolation of *Campylobacter* species from stool samples by use of a filtration method: assessment from a United States-based population. *J Clin Microbiol* 2017; 55(7): 2204-7.
61. Nielsen HL, Ejlersen T, Engberg J, Nielsen H. High incidence of *Campylobacter concisus* in gastroenteritis in North Jutland, Denmark: a population-based study. *Clin Microbiol and Infect* 2013; 19(5): 445-50.
62. Nielsen HL, Ejlersen T, Nielsen H. Polycarbonate filtration technique is noninferior to mCCDA for isolation of *Campylobacter* species from stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 83(1): 11-12.
63. On S. Identification methods for *campylobacters*, *helicobacters* and related organisms. *Clin Microbiol Rev* 1996;9 (3): 405-22.
64. Öngen B, Kaya I, İlkaç M. Rutin dışkı kültürlerinden izole edilen *Campylobacter* cinsi bakterilerin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları: 3 yıllık sonuçlar. *Ankem Derg* 2008; 22 (1): 39.
65. Platts-Mills JA, Liu J, Gratz J, Mduma E, Amour C, Swai N. Detection of *Campylobacter* in stool and determination of significance by culture, enzyme

immunoassay, and PCR in developing countries. *J Clin Microbiol* 2014; 52(4): 1074-80.

66. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC ve ark. Curved Gram-negative Bacilli and oxidase-Positive Fermenters. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 7th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2017. pp. 432-42.

67. Samie A, Obi C, Barrett L, Powell S, Guerrant R. Prevalence of *Campylobacter* species, *Helicobacter pylori* and *Arcobacter* species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods. *J Infect* 2007; 54(6): 558-66.

68. Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front Microbiol* 2011; 2(200): 1-12.

69. Skirrow MB. John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43(9):1213-7.

70. Steele TW, McDermott SN. The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathol* 1984; 16(3): 263-5.

71. Steinbrueckner B, Haerter G, Pelz K, Kist M. Routine identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human stool samples. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 179(2): 227-232.

72. Taghrid Istivan PW, Coloe P. *Campylobacter concisus*: an emerging pathogen of the gastrointestinal tract. İçinde Mendez- Vilas A, editör. *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* 2010; 626-34.

73. The Cape Town Protocol for those omnipresent opportunists – *Campylobacteriaceae* and *Helicobacters*. <http://www.scacm.org/free/Cape%20Town%20Campylobacter%20and%20Helicobacter%20Protocol.pdf>. Erişim tarihi (01.12.2016).

74. Tilmanne A, Martiny D, Hallin M, Cornelius A, Wautier M, Quach C. *Campylobacter concisus* and acute gastroenteritis in children: lack of association. *Pediatr Infect Dis J* 2018; 37(12): e339-e41.
75. Underwood AP, Kaakoush NO, Sodhi N, Merif J, Lee WS, Riordan SM ve ark. *Campylobacter concisus* pathotypes are present at significant levels in patients with gastroenteritis. *J Med Microbiol* 2016; 65(3): 219-226.
76. Van Etterijck R, Breynaert J, Revets H, Devreker T, Vandenplas Y, Vandamme P ve ark. Isolation of *Campylobacter concisus* from feces of children with and without diarrhea. *J Clin Microbiol* 1996; 34(9): 2304-6.
77. Vandenberg O, Dediste A, Houf K, Ibekwem S, Souayah H, Cadranel S ve ark. *Arcobacter* Species in Humans. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(10): 1863-67.
78. Vandenberg O, Houf K, Douat N, Vlaes L, Retore P, Butzler JP ve ark. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-*jejuni/coli campylobacters* and *arcobacters* from Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 908-913.
79. Vandenberg O, Skirrow MB, Butzler JP. *Campylobacter* and *Arcobacter*. İçinde Borriello SP, Murray PR, Funke G, editörler. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th ed. Washington DC: ASM Press; 2005. pp.1541-1553.
80. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Organisation for Animal Health (2013). The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/80751>
81. Zhang L, Man SM, Day AS, Leach ST, Lemberg DA, Dutt S ve ark. Detection and isolation of *Campylobacter* species other than *C. jejuni* from children with Crohn's disease. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 453-455.

HAM VERİLER

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (EK-1)

"Akut Gastroenteritlerde *C. jejuni* ve *C. coli* dışındaki *Campylobacter* Türlerinin Araştırılması" isimli bir çalışma yürütmekteyiz.

Bu çalışmanın amacı şudur;

Akut gastroenterit mide ve bağırsakların enflamasyonudur (iltihabıdır). Bu hastalıkta ishal ana bulgu olup, ishale bulantı, kusma, ateş ve karın ağrısı eşlik edebilir. Akut ishal 14 günden kısa süren ishaldir. Akut gastroenterit genellikle bir virus veya bakteri, daha nadir olarak da bir parazit tarafından oluşturulur. Gastroenterit, etkeni içeren dışkı ile bulaşmış olan yiyeceklerin yenilmesi veya su ve içeceklerin içilmesiyle, etkenle temas etmiş kirli ellerin ağıza götürülmesi ile gelişir. Akut gastroenteritlerde bulantı, kusma, karın ağrısı ve ateş sık olarak gelişir. Akut gastroenteritli hastalar genellikle 10 günden kısa sürede tamamen iyileşir. Ancak bağırsakta hastalık oluşturan mikrop bazen kan yoluyla diğer organ ve dokulara yayılabilir. Elektrolit değişiklikleri havale geçirme, bağırsak hareketlerinin durmasına yol açabilir. İshal sırasında aşırı bağırsak hareketleri bağırsak düğümlemesine neden olabilir. Bunlar uygun şekilde tedavi edilebilecek durumlardır. Uzun süren elektrolit bozuklukları küçük bebeklerde beyin hasarı oluşturabilir. Aşırı sıvı ve elektrolit kaybı veya mikrobun kan yoluyla bağırsak dışı organlara yayılması şok ve ölümle sonuçlanabilir. İşte bu çalışmanın amacı *Campylobacter* cinsi adı verilen bakteri türlerinin akut gastroenteritlerdeki rolünü saptamaktır. Araştırmanın süresi yaklaşık 1 yıl olarak planlanmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul etmeniz halinde laboratuvarımıza dışkı kültürü isteği ile gönderilen dışkı örneğinden çalışma yapılacaktır. Ayrıca dışkı örneği istenmeyecektir. Bu örneklerde *Campylobacter* cinsi bakterilerin saptanıp saptanmayacağı araştırılacaktır.

Çalışmaya katılmanız halinde herhangi bir zarar görmeniz beklenmemektedir. Bu çalışma sonunda ülkemizde akut gastroenteritlerin etiyolojisinde *Campylobacter* türlerinin yerinin belirlenmesi açısından önemli veriler elde edilecektir. Bu çalışma ile ilgili olduğunu düşündüğünüz her türlü sorun için; Bio. Nermin Teksoy (0212 414 20 00 / 32628; cep 0506 872 51 84), eğer ulaşamassanız, Prof. Dr. Betigül ÖNGEN (0212 414 20 00 /32627) ile bağlantı kurabilirsiniz.

Çalışmaya katılmama hakkına sahipsiniz. Çalışmaya katılsanız bile sonradan devam etmeme hakkına sahipsiniz. Hastalığınız ile ilgili özelliklerinizin başlangıçta ve çalışma sürerken araştırma şartlarına uygun olmadığının anlaşılması halinde çalışmadan çıkarılabilirsiniz. Araştırmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkılması veya çıkarılmanız halinde hastalığınız ile ilgili tedavinizde kesinlikle bir aksama olmayacaktır.

Sizden alınacak dışkı numuneleri yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacaktır. Sizin izniniz olmadan başka bir çalışmada kullanılmayacaktır. Lütfen izin verdiğiniz seçeneği işaretleyiniz:

Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum

- İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum

Katılımcının/Hastanın Beyanı

(Bu bölüm hazırlanan gönüllü olur formunun sonuna eklenmelidir)

Sayın Bio. Nermin Teksoy tarafından İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Bio. Nermin Teksoy İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan ve 0212 414 20 00/32627, GSM: 0506 872 51 84'ü arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda

söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı Soyadı:

İmzası

Adresi:

Telefon no ve varsa faks no:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasiinin

Adı Soyadı:

İmzası

Adresi:

Telefon no ve varsa faks no:

Açıklamaları yapan araştırıcının

Adı soyadı:

İmzası

Rıza işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı soyadı:

İmzası

Görevi:

Yasal Temsilcinin

Adı soyadı:

İmzası

ETİK KURUL KARARI

89



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1383

Tarih : 10.07.2015

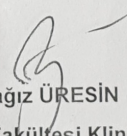
Konu : Prof. Dr. Betigül ÖNGEN

Sayın Prof. Dr. Betigül ÖNGEN
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 09.06.2015 tarihli 18518 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi Nermin TEKSOY' un yürüteceği 2015/1246 dosya numaralı "Akut Gastroenteritlerde C. jejuni ve C. coli Dışındaki Campylobacter Türlerinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurumumuzun 26/06/2015 tarih ve 12 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

AKUT GASTROENTERİTLERDE C. JEJUNI/COLI DIŞINDAKİ DİĞER CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**6**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**4**

YAYINLAR

%**6**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Ankara University

Öğrenci Ödevi

%**1**

2

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**1**

3

KILIÇARSLAN, Sabire, TEKCAN, Akın, DEMİR,
Helin Deniz and YİĞİT, Serbüent.

"PSÖDOEKSFOLİYASYON
SENDROM/GLOKOM HASTALIĞININ
CLUSTERİN rs11136000 GEN
POLİMORFİZMİYLE İLİŞKİSİNİN

ARAŞTIRILMASI", Bozok Tıp Dergisi, 2017.

Yayın

<%**1**

4

acikarsiv.ankara.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

Submitted to Selçuk Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%**1**

6

doctiktak.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nermin	Soyadı	Teksoy
Doğ.Yeri	Zlatograd	Doğ.Tar.	12.02.1990
Email	nerminteksoy@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi	2012
Lise	Rıfat Canayakın Lisesi	2008

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Klinik Araştırma	BIOTECH VISIONCARE SAĞLIK ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC.A.Ş.	2018- Devam
2.	Ürün Danışmanı	Savaş Medikal	01.2017-09.2017

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	YÖKDİL Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	72	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Posterler:

Aydın AŞ, Teksoy N, Öngen B. Dışkı kültürlerinden izole edilen *Campylobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 16-20 Kasım 2016 Antalya-Türkiye; PS-055.

Kurt A, Teksoy N, Aydın AŞ, Yeşiloğlu C, Öngen B. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs pozitifliği ve rotavirüs sezonunun takibi: Beş yıllık sonuçların değerlendirilmesi. 1. Uluslararası Viroloji Günleri ve Kursu, 25-28 Şubat 2016 Ankara-Türkiye.

Teksoy N, İlkaç M, Nazik H, Şenel Ü, Albayrak R, Pakaştıçalı N, Durmuş MA, Öngen B. Rutin dışkı örneklerinde *Staphylococcus aureus* sıklığı ve antibiyotik duyarlılıkları. XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Kasım 2014 Antalya-Türkiye; PS-037.