



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MERSİN İLİNDE ÇOCUKLUK ve ERİŞKİN ÇAĞINDA
CAMPYLOBACTER GÖRÜLME SIKLIĞI, ANTİBİYOTİK
DİRENCİNİN BELİRLENMESİ ve VİRULANS
FAKTÖRLERİNİN SAPTANMASI**

Dr. YUSUF GÖRGÜLÜ
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. GÖNÜL ASLAN

MERSİN - 2019



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MERSİN İLİNDE ÇOCUKLUK ve ERİŞKİN ÇAĞINDA
CAMPYLOBACTER GÖRÜLME SIKLIĞI, ANTİBİYOTİK
DİRENCİNİN BELİRLENMESİ ve VİRULANS
FAKTÖRLERİNİN SAPTANMASI**

**Dr. YUSUF GÖRGÜLÜ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. GÖNÜL ASLAN**

Bu tez, 2018-2-TP3-2930 kodlu proje olarak Mersin
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.

MERSİN-2019

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Gönül Aslan'a; Tıpta Uzmanlık eğitimime katkıda bulunan Prof. Dr. Nuran Delialioęlu'na, Prof. Dr. Candan Öztürk'e, Doç. Dr. Seda Tezcan Ülger'e; tez çalışmamda yardımını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Başkanı Prof. Dr. Fatih Köksal'a; asistanlık sürecimde bana her zaman yardımcı olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında görev yapan tüm çalışanlara ve tüm asistan arkadaşlarıma; istatistik çalışmaları konusunda yardımcı olan Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Arş.Gör.Merve Türkeęün Şengül'e, beni her zaman destekleyen ve yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	5
ABSTRACT	6
1.GİRİŞ VE AMAÇ	7
2.GENEL BİLGİLER.....	9
2.1. <i>Campylobacter</i> spp.'nin Genel ve Mikrobiyolojik Özellikleri.....	9
2.1.1.Yapısal Özellikleri.....	9
2.1.2. Üreme Özellikleri	9
2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri.....	9
2.1.4. Genetik Özellikleri	9
2.2.Sınıflandırma.....	10
2.3.Virulans Faktörleri ve Patogenez	10
2.3.1. Adezyon ve İnvazyon	10
2.3.2. Flajella.....	11
2.3.3. Toksin Üretimi	12
2.3.4. Yüzeysel Karbonhidrat Yapılar.....	12
2.3.5. Oksidatif Stres Cevabı.....	13
2.4. Bulaşma Yolları ve Epidemiyoloji	13
2.4.1. Bulaşma Yolları	13
2.4.2. Epidemiyoloji	13
2.5. <i>Campylobacter</i> Enfeksiyonları ve Komplikasyonları.....	14
2.6. <i>Campylobacter</i> Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı.....	15
2.6.1. Örnek Alımı, Taşınması ve Saklanması	15
2.6.2. Mikroskopik İnceleme.....	16
2.6.3. Kültür.....	16
2.6.4. İdentifikasyon	17
2.6.5. Dışkıda Antijen Arama Testleri.....	17
2.6.6. Nükleik Asit Amplifikasyon Bazlı Tanı (NAAT)	18
2.7. Antimikrobiyal Duyarlılık ve Direnç Mekanizmaları.....	18
2.8. Bulaş Yolları ve Önlemler.....	19
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	21

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	21
3.1.1. Cihazlar	21
3.1.2. Kimyasal Malzemeler	21
3.2. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar	23
3.2.1. Cary-Blair Medium	23
3.2.2. Modified Charcoal Cefoperazon Deoxycholate Agar (mCCDA)	23
3.2.3. MHF (Mueller Hinton Fastidious) Agar Besiyeri	24
3.2.4. Oksidaz Ayıracı	24
3.2.5. Katalaz Ayıracı	25
3.3. Yöntem.....	25
3.3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler	25
3.3.2 Örneklerin Ekimi ve İnkübasyonu	25
3.3.3. Kültürlerin Değerlendirilmesi	25
3.3.3.1. Oksidaz Testi	26
3.3.3.2. Katalaz Testi	26
3.3.3.3. Sefalotin ve Nalidiksik Asit Duyarlılık Testi.....	26
3.3.4 Antibiyotik Duyarlılıklarının İncelenmesi	27
3.3.5. Moleküler Uygulamalar.....	27
3.3.5.1. DNA Ekstraksiyonu	28
3.3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	28
3.3.6. İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. Çalışma Grubunun Özellikleri.....	30
4.2. Mikroskopik İnceleme, Kültür ve PZR Sonuçları	30
4.3. <i>Campylobacter</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	33
4.4. Direnç Genleri ve Virulans Faktörlerinin Saptanması	34
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
7. KAYNAKLAR.....	50
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	65
ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ.....	66
TABLolar DİZİNİ	67

ÖZET

Mersin İlinde Çocukluk Ve Erişkin Çağında *Campylobacter* Görülme Sıklığı, Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi Ve Virulans Faktörlerinin Saptanması

Tüm dünyada en çok ölüme neden olan hastalıklardan biri akut gastroenteritlerdir. Özellikle gelişmemiş ülkelerde çocuk ölümlerine ve büyük miktarlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *Campylobacter* türleri de yetişkin ve pediatrik hastalarda gastroenterit etkenleri arasında en yaygın türlerden biri olarak bilinmektedir. Genellikle hayatı tehdit etmeyen bir ishal şeklinde başlayıp kendini sınırlasa da, bazen ciddi morbiditelere neden olabilen ve mortaliteye doğru giden bir tablo ile karşımıza çıkabilir. Bu çalışmada, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi polikliniklerinden ve yatan hastalardan, akut gastroenterit ön tanısıyla Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinden, hastanemizde rutin kültürü yapılmayan *Campylobacter* türlerinin sıklığının belirlenmesi amaçlanmış 401 hasta örneği dahil edilmiştir. Öncelikle mikroskopik olarak incelenen dışkı örnekleri seçici besiyeri olan mCCDA (Modifiye Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar) ekilmiş ve konvansiyonel yöntemlerle *Campylobacter* spp. olarak tanımlanmıştır. Tür tayini, direnç ve virulans gen bölgeleri de Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile belirlenmiştir. İncelenen 401 dışkı örneğinin 44'ünde *Campylobacter* (%10.9) türü bakteri üremesi saptanmıştır. Bunların 36'sı *Campylobacter jejuni*, 6'sı *Campylobacter coli* ve 2'si de *Campylobacter* spp. olarak tanımlanmıştır. İzolatların eritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. 44 izolatin tamamı siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Tetrasiklin direnci 43 izolatta saptanırken sadece 1 *C.jejuni* izolatu tetrasikline duyarlı tespit edilmiştir. Eritromisin direnci ise 4 izolatta görülmüştür ve bu izolatların 3'ü *C.coli*, 1'i *C.jejuni* olarak tanımlanmıştır. 44 *Campylobacter* izolatinın 40'ında (% 90,9) 23S rRNA bulunurken, 21 izolatta (% 47,7) da *gyrA* genleri tespit edilmiştir. Diğer yandan; 44 izolatin 34'ünde (% 77,3) *cadF* geni bulunurken, 24'ünde (% 54,5) *cdtABC* genine rastlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter*, Gastroenterit, mCCDA, PZR, Virulans.

ABSTRACT

Frequency of *Campylobacter* Occurrence in Childhood and Adulthood, Determination of Antibiotic Resistance and Determination of Virulence Factors in Mersin Province

One of the most fatal diseases in the world is acute gastroenteritis. It causes child mortality and large amounts of economic losses, especially in undeveloped countries. *Campylobacter* species are also known as one of the most common types of gastroenteritis agents in adult and pediatric patients. Although it usually starts as a non-life-threatening diarrhea, it can sometimes be confronted with a picture that can cause serious morbidities and go towards mortality. In this study, it was aimed to determine the frequency of *Campylobacter* species that are not routinely cultured in our hospital, from the outpatient samples sent from Mersin University Medical Faculty Health Research and Application Center Hospital polyclinics and inpatients with the pre-diagnosis of acute gastroenteritis, and 401 patient samples were included. First of all, stool samples that were examined microscopically were planted with selective medium mCCDA (Modified Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar) and *Campylobacter* spp. defined as. Species identification, resistance and virulence gene regions are also determined by Polymerase Chain Reaction (PCR). In 44 of the 401 stool samples examined, *Campylobacter* (10.9%) bacterial growth was detected. 36 of them are *Campylobacter jejuni*, 6 of them are *Campylobacter coli* and 2 of them are *Campylobacter* spp. defined as. Erythromycin, tetracycline and ciprofloxacin antibiotic susceptibility test of isolates was determined by disc diffusion method. All 44 isolates were found resistant to ciprofloxacin. While tetracycline resistance was detected in 43 isolates, only 1 *C.jejuni* isolate was detected sensitive to tetracycline. Erythromycin resistance was seen in 4 isolates and 3 of these isolates were identified as *C.coli* and 1 as *C.jejuni*. While 40 (90.9%) of 44 *Campylobacter* isolates had 23S rRNA, *gyrA* genes were detected in 21 isolates (47.7%). On the other hand; While 34 (77.3%) of 44 isolates had *cadF* gene, 24 (54.5%) of *cdtABC* gene was found.

Keywords: *Campylobacter*, Gastroenteritis, mCCDA, PCR, Virulence.

Advisor: Prof. Dr. Gönül ASLAN, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Mersin University, Mersin.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Campylobacter türü, sıklıkla gastrointestinal sistemi tutan akut gastroenterit etkeni olarak karşımıza çıkan bir patojendir¹. Gıda kaynaklı *Campylobacter* spp. enfeksiyonları, Avrupa'nın ve dünyanın birçok ülkesinde başlıca halk sağlığı problemlerinden biri olarak kabul edilmektedir^{2,3}. Son araştırmalara göre, yılda ortalama 166.000 vaka arasında 31.700 Gullian Barre Sendromu'na ve 37.604 ölüme neden olmuştur⁴. *Campylobacter* türlerine bağlı gastroenteritler, hafif kendini sınırlayan bir ishalden; yüksek ateş, halsizlik ve kırılgınlığın da görüldüğü ciddi fulminan enterokolit şeklinde seyredebilir. Karın ağrısı, abdominal kramplar şeklindedir. Dışkı başlangıçta mukoid ve sıvı karakterde iken, giderek kan ve pürülan kısımlar içeren bol sulu bir ishale ilerleme olabilir. Semptomlara bulantı ve kusma da eklenebilir¹.

Campylobacter spp. kaynaklı ishaller, genellikle sadece hidrasyon ile kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır. Buna rağmen bazı durumlarda (immün sistemi baskılanmış, ciddi komplikasyonları olan hastalar vb.) antimikrobiyal tedavi gerekebilir⁵. Günümüzde en sık tercih edilen ajanlar makrolidler ve florokinolonlardır. Ancak bu antibiyotiklere karşı direnç bildirimi giderek artış göstermektedir. Genel olarak, DNA-Gyrase ve Topoizomeraz IV'ün A alt birimlerindeki (GyrA ve ParC) amino asit süstitüsyonları, kinolon direncinin en önemli mekanizmalarıdır⁶. Ayrıca sitoplazmik kinolon tutulumundaki değişiklikler ve aktarılabılır kinolon direnç mekanizması; artan kinolon direncinde rol oynamaktadır^{6,7}. Makrolidler, ribozomun 50S alt birimiyle etkileşime girerek protein sentezi ve elangasyonunu inhibe eder. 23S rRNA, L4 veya L22 proteinlerinin etkileşim noktalarındaki değişiklikler, birçok mikroorganizmada makrolid direncine yol açmaktadır⁸. *Campylobacter* türleri; motilite, adhezyon, invazyon, toksin-aktivitesi, immün yanıtta kaçış ve demir alımı ile ilgili farklı virülans faktörlerine sahiptir⁹. Bu virülanslarla ilişkili birçok gen bölgesi tanımlanmıştır. Bunlardan biri dış mebran proteinleri (OMPs) grubuna ait 37 kDa proteinini kodlayan *cadF* genidir. Bir diğer gen bölgesi ise bazı *C.jejuni* ve *C.coli* suşlarında tanımlanan *iam* (invazyon ilişkili belirteç) genidir. Aynı zamanda *Campylobacter* türlerinin virülansı; *cdtA*, *cdtB* ve *cdtC* genleri tarafından kodlanan sitotoksin üretimiyle ilişkili bulunmuştur¹⁰.

Campylobacter spp. kaynaklı ishallerin çoğunluğu kendi kendini sınırlıyor olmasına rağmen, yanlış tedavi veya gereksiz antibiyotik kullanımı tedavi

maliyetinde artışa ve mikroorganizmalarda antibiyotik direncine yol açabilmektedir. Bu nedenle, *Campylobacter* spp. sıklığının ve direnç profilinin bilinmesi etkin tanı ve tedavi sağlayacağı gibi antimikrobiyal ajanların da doğru seçilmesini sağlayacaktır.

Bu çalışmada, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi polikliniklerinden ve yatan hastalardan, akut gastroenterit ön tanısıyla Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinden, hastanemizde rutin kültürü yapılmayan *Campylobacter* türlerinin sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda *Campylobacter* türleri; kültür, biyokimyasal ve moleküler yöntemler kullanılarak belirlendi ve pozitif bulunan örneklerde; antibiyotik direnci ve virülans faktörleri araştırıldı.

Bu çalışma ile hastanemizde *Campylobacter* enfeksiyonları tanısının konulması ve doğru antimikrobiyal ajan seçiminde klinisyenlerin yönlendirilmesi hedeflenmektedir. Ayrıca, *Campylobacter* spp. tanımlama yöntemlerinin laboratuvarımıza yerleştirilmesi de planlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Campylobacter spp.'nin Genel ve Mikrobiyolojik Özellikleri

2.1.1Yapısal Özellikleri

Campylobacter türleri Gram negatif, ince kıvrımlı veya S şeklinde ve 0,2-0,8 µm x 0,5-5 µm boyutlarında mikroaerofilik bakterilerdir. Başta kümes hayvanları olmak üzere birçok yabani kuş ve memeli türlerinin gastrointestinal sistemlerinde kommensal olarak yaşayabilmektedir. *Campylobacter gracilis* (hareketsiz) ve *Campylobacter showae* (çoklu kirpik) hariç, diğer tüm *Campylobacter* türleri bir ucu veya her iki ucunda olmak üzere tek bir kirpiğe sahiptir [9]. *Campylobacter* türleri oksijene maruz kaldıklarında spiral formdan, kokoid veya yuvarlak forma (dormant form) geçebilir¹¹.

2.1.2. Üreme Özellikleri

Campylobacter türleri genel olarak, %5 oksijen, %10 karbondioksit ve %85 nitrojen içeren mikroaerofilik atmosfer şartlarına gereksinim duyarlar. Bütün türleri 37°C'de ürese de, termofilik olarak bilinen *C.jejuni*, *C.coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis* 42°C'de daha hızlı ve yoğun üremektedir. Bu farklılıktan yararlanılarak dışkıda üreyen koliform bakterilerin üremesi baskılanıp, termofilik *Campylobacter* türlerinin izole edilme şansı artırılabilir¹².

2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri

Campylobacter gracilis hariç bütün türlerde oksidaz aktivitesi pozitifdir. Aynı zamanda karbonhidratları fermantasyona uğratmazlar. Bunun yerine, enerji ihtiyaçlarını amino asitlerden ya da trikarboksilik asit döngüsü ara ürünlerinden sağlarlar. Katalaz testi, fenotipik olarak tanımlamada kullanılan birkaç testten biridir ve pozitif ya da zayıf pozitif olabilir. *Campylobacter jejuni*; hippurat ve indoksil asetatı hidrolize ederken, nitratı indirger³. Karbonhidratları fermante etmedikleri için, metil red ve vogues proskauer testleri ise negatiftir¹³.

2.1.4. Genetik Özellikleri

Campylobacter türleri diğer bakterilere nazaran daha küçük bir genoma sahiptir. Dört farklı coğrafi bölgeden *Campylobacter* türlerinin dâhil edildiği bir çalışmada, *C.jejuni* ortalama 1.709 Mb'lık boyuta sahipken, *C.coli* 1.703 Mb

olarak tespit edilmiştir¹⁴. Ayrıca *Campylobacter* türleri arasında plazmid veya bakteriyofajla gen aktarımı da olabilmektedir.

C.jejuni klinik izolatlarının %19 ile 56'sı çeşitli boyutlarda plazmidleri barındırır. Bu plazmidlerin ortak özellikleri veya *C.jejuni*'deki işlevleri hakkında çok az şey bilinmektedir¹⁵. *Campylobacter* fajları 110 kb ile 320 kb arasında bildirilse de, 140 kb genom büyüklüğünün *Campylobacter* fajları için yaygın olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur¹⁶.

2.2.Sınıflandırma

Campylobacter sınıflandırması ilk olarak 1963 yılında ortaya atılmıştır. Bu tarihe kadar *Vibrio* sınıfında değerlendirilirken, Sebald ve Veron isimli araştırmacılar mikroaerofilik büyüme gereksinimleri, karbonhidratları fermante etmemeleri ve düşük DNA kompozisyonları nedeniyle ayrı bir sınıf olarak değerlendirmişlerdir³. Foster ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmada, *Campylobacteriaceae* ailesi içinde 16 tür ve 6 alt tür bulunmuştur¹⁷. Ayrıca bu aile içerisinde *Arcobacter* türleri de bulunmaktadır. *Campylobacter* türleri 1909 yılından beri hayvanlarda hastalık etkeni olarak bilinse de, insanlarda genel olarak 1980'li yıllardan itibaren patojen olarak kabul edilmiştir. *Campylobacter jejuni subsp. jejuni*, *C.jejuni subsp. doylei*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis* ve *Campylobacter helveticus* genetik olarak birbirine yakın, insan ve hayvanlarda en sık izole edilen ishal etkenleridir. Filogenetik olarak birbirine benzeyen *Campylobacter concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. sputorum* ve *C. hominis* gibi türler üreme için hidrojene ihtiyaç duymaktadırlar. Ayrıca *Campylobacter fetus subsp. fetus*, *C. fetus subsp. venerealis*, *Campylobacter hyointestinalis subsp. hyointestinalis* ve *C. hyointestinalis subsp. Lawsonii* türleri de fenotipik ve genotipik olarak benzerdir¹⁸.

2.3.Virulans Faktörleri ve Patogenez

2.3.1. Adezyon ve İnvazyon

Campylobacter türleri ilk olarak ince bağırsakta kolonize olur ve hedef organ olan kolona geçerler. Mukus bariyeri aştıktan sonra, çeşitli adezinler yoluyla epitelyal hücrelere yapışırlar¹⁹. *C.jejuni* genellikle invaziv olarak kabul edilse de, epitel hücrelerine geçişi henüz tam olarak açıklanamamıştır²⁰.

Campylobacter invazyon antijenleri olarak adlandırılan Cia proteinleri, ökaryotik hücreyle temas edildiğinde, flagella tarafından salgılanmaktadır. Bu sayede bakterinin epitelyal yüzeye invazyonu kolaylaşır²¹. *C.jejuni*'nin; epitel hücreleri, dendritik hücreler ve makrofajlarla etkileşimi, nükleer transkripsiyon faktörü, NF-kB ve MAPK sinyal yollarının aktivasyonunu tetikleyebilir. Bunun sonucunda ortaya çıkan sitokin salınımı, hem inflamatuvar ishalin başlamasına, hem de enfeksiyonun temizlenmesine neden olmaktadır¹⁹. Dış membran proteinlerinden olan *CadF* ve *PEB1* molekülleri de yapışma ve invazyondan sorumludur. *PEB1* proteini *peb1A* gen bölgesi tarafından kodlanır²³. Yıllar içinde birçok *Campylobacter* adezyon faktörü tanımlanmıştır (Tablo 2.1)⁹. İmmün yanıt oluşturan PEB1 yüzey proteini aşı çalışmalarında da kullanılmıştır.

Tablo 2.1. *Campylobacter* Adezyon Faktörleri⁹

Virülans Faktörleri	Kodlayan Genler
cadF, dış membran proteini	<i>cadf</i>
capA, Campylobacter adezyon proteini A	<i>capA</i>
Fosfalipaz A	<i>pldA</i>
Lipoprotein	<i>jlpA</i>
Peb1, periplazmik bağlama proteini	<i>Peb1A</i>
Peb3, transport proteini	<i>Peb3</i>
Peb4, şaperon	<i>Peb4</i>
FlpA, fibronektin benzeri protein A	<i>flpA</i>
Tip IV sekresyon sistemi	<i>virB11</i>
JlpA, lipoprotein	<i>jlpA</i>

2.3.2. Flajella

Campylobacter spp. için flajella en önemli virülans faktörlerinden biridir. Flajella, bağırsak mukozası ve epitel hücrelerinin istilası için bakteriye hareketlilik sağlar. Bu sayede, hedef organda kolonizasyon oluşturulur. Ayrıca, *Campylobacter* invazyon antijenleri olarak adlandırılan Cia proteinler, flajella tarafından salgılanmaktadır. *C.jejuni*'ye özgü olan ve FspA olarak adlandırılan bir başka protein de yine flajella filamentinden salgılanır. İki farklı FspA formu saptanmış olup; FspA2 epitelyal hücrelere temas ettiğinde, apoptozisi tetiklediği belirlenmiştir. FspA1'in böyle bir etkisi bulunmamaktadır¹⁹. 2008 yılında yapılan

hayvan deneyli aşı çalışmalarında, FspA1 serum IgG ve fekal IgA seviyesini FspA2'ye göre daha yüksek seviyelere çıkardığı belirlenmiştir²³.

2.3.3. Toksin Üretimi

Campylobacter virülans faktörlerinden biri de toksin üretimidir. Birçok Gram negatif bakterinin de üretebildiği CDT (cytolethal distending toxin) en bilinen toksindir. *cdtA*, *cdtB* ve *cdtC* gen bölgeleri tarafından kodlanan bu toksinin işlevsel olabilmesi için, üç gen bölgesinin de aktif olması gerekmektedir. *cdtA* ve *cdtC* gen bölgesi ürünleri, toksinin hücre zarına bağlanmasından sorumluyken, *cdtB* gen bölgesi ürünü de enzimatik olarak aktifleyen alt birimidir. Bu toksin kompleksi, konak hücre çekirdeğine girerek deoksiribonükleaz enzimi gibi davranır ve mitozdan hemen önceki hızlı hücre büyüme dönemi olan G2 fazında, CDC2 kinazı bloke ederek hücre siklusunu durdurur⁹. Bu molekül kompleksi, epitel hücrelerinden IL-8 salınımını uyararak, inflamatuvar ishalin başlamasına da neden olur²⁴. Yapılan çalışmalarda CDT'e ek olarak; 70 kDa büyüklüğündeki toksin, HeLa/Vero hücrelerini aktive eden sitotoksin, hemolitik etki gösteren sitotoksin, hepatotoksin ve Shiga benzeri toksinler de tanımlanmıştır²⁵.

2.3.4. Yüzeyel Karbonhidrat Yapılar

Campylobacter dış membranı, lipopolisakkarit (LPS) ve lipooligosakkarit (LOS) yapılar içerir. Oligosakkarit ve lipit A'dan oluşan LOS molekülü; adezyon, invazyon ve immün yanıtta kaçış gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptir. *C.jejuni*'de bulunan LOS yapıdaki monosakkaritlerin sializasyonu sonucu birden fazla varyasyonların ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu varyantların antijenik özelliğinin azaldığı ve immün yanıtta daha kolay kaçtıkları düşünülmektedir⁹. Ayrıca; endojen olarak üretilen sialik asitin monosakkarit yapılara eklenmesiyle ortaya çıkan LOS molekülü, insanlarda bulunan gangliozidlere benzemesi nedeniyle Guillian Barre Sendromu (GBS) dan sorumludur²⁶. LPS; kor oligosakkarit, lipit A ve tekrarlayan oligosakkarit birimlerin meydana getirdiği bir O-zincirden oluşur. Bununla birlikte, bir zamanlar LPS ile ilişkili olarak kabul edilen tekrar eden oligosakkarit ünitelerinin (O-zinciri) artık kapsüller olduğuna inanılmaktadır²⁷.

2.3.5. Oksidatif Stres Cevabı

Mikroaerofilik olan *Campylobacter* türleri hayat döngülerinde mutlaka serbest oksijen radikallerine maruz kalırlar. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit anyonu (O₂⁻) gibi radikaller, yüksek derecede toksik olan hidroksil radikalini (OH•) oluşturmak için etkileşime girebilir. Birçok bakteri türü hidrojen peroksiti, su ve oksijene dönüştürmek için katalaz enzimini kullanır. *Campylobacter* türlerinde oksijen radikalleri düşük konsantrasyondaiken, detoksifikasyondan alkil hidroperoksit redüktaz (AhpC) sorumludur. Ancak; radikal oranları artmaya başladığında katalaz (KatA) enzimi devreye girmektedir⁹.

2.4. Bulaşma Yolları ve Epidemiyoloji

2.4.1. Bulaşma Yolları

Campylobacter türleri sıklıkla gastrointestinal sistemi tutan akut gastroenterit etkeni olarak karşımıza çıkan bir patojendir¹. Gıda kaynaklı *Campylobacter* spp. enfeksiyonları, Avrupa'nın ve dünyanın birçok ülkesinde başlıca halk sağlığı problemlerinden biri olarak kabul edilmektedir^{2,3}. *Campylobacter* türleri birçok evcil ve vahşi hayvan bağırsak florasının doğal bir üyesidir. Gıdaların fekal florayla kontaminasyonu, genellikle hayvan kesimi esnasında meydana gelir. Yeterince pişmemiş et ve süt ürünleri, ishalleri evcil hayvanların gıdaları kontamine etmesi gibi durumlar da bulaşta önemli rol oynamaktadır²⁶.

2.4.2. Epidemiyoloji

İnsanlarda *Campylobacter* enfeksiyonları epidemiyolojisini daha iyi anlamak için, hayvanlarda taşıyıcılığın ve direnç durumunun bilinmesi gerekmektedir. Avrupa Birliğine (AB) Üye Devletlerin çoğu şu anda *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi zoonotik ajanlarda antimikrobiyal direnci izlemektedir [28]. Yaklaşık 20 yıldır devam eden sürveys çalışmasına üye ülkeler düzenli olarak verilerini bildirmektedir²⁹.

Gelişmekte olan ülkeler ile gelişmiş ülkelerde, *Campylobacter* nedenli enfeksiyonların epidemiyolojik özellikleri farklılıklar göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde hastalık sıklıkla çocuklarda görülürken, erişkinler için büyük bir

problem teşkil etmemektedir. Ayrıca çocuklarda *Campylobacter* enfeksiyonları ile mevsimsel bir ilişki saptanırken, erişkinlerde yıl boyunca sporadik vakalar görülebilmektedir³⁰. Ülkemizde de *Campylobacter* enfeksiyonlarının görülme sıklığı ile ilgili yapılan çalışmalarda %0.6 ile %14 arasında değişen oranlar bildirilmektedir³¹. Dünya genelinde, *C.coli* ve *C.jejuni* en sık kampilobakteriyozis etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Hemen hemen her yaş grubu etkilense de, genellikle 5 yaş altı çocuklarda görülmektedir. 2013 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılan bir çalışmada her 100.000 kişide 13.8 kişinin *Campylobacter* enfeksiyonlarına maruz kaldığı ve bu durumun toplam maliyetinin yaklaşık 8 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir³².

2.5. *Campylobacter* Enfeksiyonları ve Komplikasyonları

Campylobacter enfeksiyonları gıda yoluyla bulaşan gastroenterit nedenlerinin en başında gelir. Kontamine su ve gıda kaynaklı bulaşan etkenler arasında *Salmonella* ve *Escherichia coli*'den 3-4 kat daha sık görülür². *Campylobacter* türlerine bağlı gastroenteritler, hafif kendini sınırlayan bir ishalden; yüksek ateş, halsizlik ve kırgınlığın da görüldüğü ciddi fulminan enterokolit şeklinde seyredebilir. Karın ağrısı abdominal kramplar şeklindedir. Dışkı başlangıçta mukoid ve sıvı karakterde iken, giderek kan ve pürülan kısımlar içeren bol sulu bir ishale ilerleme olabilir. Semptomlara bulantı ve kusma da eklenebilir¹. Klinik belirtiler genellikle bakterinin alımından sonra 1-7 gün içerisinde ortaya çıkar ve tablo sıklıkla kendi kendini sınırlar. Yaş grupları içinde belirtiler değişkenlik gösterse de, anne sütü alan yeni doğanlarda genellikle görülmez³⁰.

Çoğunlukla antimikrobiyal tedaviye gerek kalmasa da bazen komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Başlıca bilinen komplikasyonlar; Guillain-Barré Sendromu (GBS), Reaktif Artrit (REA) ve irritabl barsak sendromudur. GBS'nin varyantı olan Miller Fisher Sendromu da yine bir *Campylobacter* enfeksiyonunu takiben ortaya çıkabilir³³. Bu tabloların yanında hemolitik üremik sendrom, interstisyel nefrit, IgA nefropatisi, reaktif artrit, bursit gibi non infeksiyöz komplikasyonlar da görülebilmektedir³⁴.

Guillain Barré sendromu (GBS), antijenik uyaranlara cevap olarak oluşturulan otoantikörlerin tetiklediği, periferik sinir sisteminin otoimmün bir hastalığıdır. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda her 100.000 *Campylobacter*

enfeksiyonu sonrası, 20-65 kişi arasında GBS ortaya çıkmaktadır. Ek olarak; asemptomatik veya hafif klinik belirtiler gösteren *Campylobacter* enfeksiyonlarına tanı konulamadığı için bu oranın daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir³⁵. *Campylobacter* türlerindeki LPS'nin moleküler yapısı ile periferik sinir sisteminde bulunan gangliozidlerin moleküler yapısı arasında benzerlik yüksektir. LPS'lere karşı gelişmiş antikorlar, sinir gangliozidleri ile reaksiyona girer, sinirlerde hasara ve fizyolojik fonksiyon kaybına neden olurlar.

Campylobacter türlerinin bir diğer enfeksiyon sonrası komplikasyonu, Reaktif Artrit (REA). Gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda; enfeksiyon sonrası REA insidansının her 100.000 kişi de 4.3 olduğu saptanmıştır³³. 2008 yılında ABD'de yayınlanan araştırmada, *Campylobacter* veya diğer enterik patojenlerle enfekte olmuş 6379 hasta 8 hafta boyunca izlenmiş, bu hastaların %70'i REA açısından taramaya alınmış ve 575 (%13) hastada REA gelişimi gözlemlenmiştir³⁶.

Enfeksiyöz gastroenteritler, İrritabl Bağırsak Sendromu (İBS) gelişimi için en önemli predispozan faktörlerden biridir. İBS gelişme riski ile akut hastalığın şiddeti arasında yakın bir korelasyona dair bulgular vardır. *Campylobacter* spp. ve enterohemorajik *E.coli* (EHEC) ile kontamine suyun neden olduğu bir salgın sonrası Marshall ve arkadaşları, hastalığın akut fazından daha uzun süren diyare ve abdominal krampları olanlarda, İBS riskinin arttığını bildirmişlerdir³⁷.

2.6. *Campylobacter* Enfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı

2.6.1. Örnek Alımı, Taşınması ve Saklanması

Campylobacter düşünülen gastroenterit vakalarında, bakterinin izolasyonu için tercih edilen materyal dışkı ya da rektal sürüntüdür. Alınan tüm örnekler, en geç 2 saat içerisinde işleme alınmalıdır. Dışkı örneği tanıda birinci seçenektir. İshalin başladığı ilk günlerde mümkün olduğunca erken dönemde, antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. En az 4-5 gr (sulu ise 4-5 ml) taze dışkı örneği kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır¹. Alınan örnekler 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmayacaksa; modifiye Carry Blair, kömürlü Amies ve CampyThio besiyerleri gibi özel taşıyıcı besiyerlerine alınmalı ve +4 °C' de tutulmalıdır³⁸. Bakteriyemi de ise periferik kan kültürleri en uygun

örnektir. Yapılan çalışmalarda BACTEC ve Septi-Chek gibi otomatize sistemlerle bakteri izolasyonunun mümkün olduğu gösterilmiştir³⁹.

2.6.2. Mikroskopik İnceleme

Campylobacter gastroenteritlerinde dışkının ilk 2 saat içerisinde Gram ile boyanması tanıya yardımcı bir uygulamadır. *Campylobacter* türleri oldukça ince bir yapıda olduğu için zıt boyamada sulu fuksin yerine, karbol fuksin ya da %1'lik bazik fuksin kullanılması önerilmektedir³⁹. Hazırlanan preparatlarda soluk pembe renkte; ince, virgül ya da S şeklinde kıvrık basiller aranır. Karakteristik morfolojisi ile *Campylobacter spp*, akut ishalde dışkı örneklerinden Gram boyama ile %66-94 duyarlılık ve %95'in üzerinde özgüllük ile tanımlanabilmektedir¹.

2.6.3. Kültür

Campylobacter için kültür ve izolasyon yöntemleri, aynı ülkedeki laboratuvarlar arasında bile değişkenlik göstermektedir. Genel olarak 2 temel yöntem benimsenmiştir. Birincisi, dışkı örneklerinin direkt olarak seçici besiyerlerine ekimi, ikincisi ise dışkının 0.8 µm, 0,65 µm ve 0.45 µm çaplı selüloz asetat membran filtrelerden süzöldükten sonra, selektif besiyerine ekilmesidir. Filtrasyona rağmen *Proteus spp.* gibi hareketli bakteriler, izolasyon şansını düşürmektedir. Seçici besiyerlerinin temel amacı, florayı baskılamak ve *Campylobacter* türlerinin üreme şansını artırmaktır. Bundan dolayı metabolizmalarında kullanılmak üzere kan, demir sülfat, kazein, sodyum purivat, hematin ve kömür gibi maddeler besiyerlerine eklenmektedir. Florayı baskılamak içinse kullanılan besiyerlerine; sefalosporin, trimetoprim, polimiksin, novobiosin, vankomisin, teikoplanin, basitrasin, rifampisin, amfoterisin B ve sodyum deoksikolat gibi antimikrobiyal ajanlar ilave edilir⁴⁰.

Campylobacter türlerinin kültürde üretimi için genel olarak, kan içeren ve içermeyen olarak iki tipte besiyerleri kullanılır. Kan içermeyen besiyerlerinden başlıca; Modifiye Charcoal Cefoperazon Deoksikolat Agar (mCCDA), Cefoperazon, Amphotericin-B ve Teichoplanin agar (CAT medium) sayılabilir. Yapılan çalışmalarda mCCDA'nın kan içeren besiyerlerine nazaran izolasyon şansını artırdığına dair çalışmalar mevcuttur⁴¹. Kan içeren besiyerlerinden

bazıları ise; Skirrow besiyeri, Campy CVA besiyeri, Campy-BAP (Blaser's besiyeri) ve Butzler besiyeridir.

Toplanan dışkı örnekleri izolasyon şansını artırmak için, biri kanlı olmak üzere en az iki besiyerine ekilmelidir. *Campylobacter* türleri mikroaerofilik olduğundan, ekim sonrası besiyerleri %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂ içeren atmosferde, 37°C ve/veya 42°C'de 48-72 saat inkübe edilir. İnsanlarda patojen olan *Campylobacter* türleri büyük oranda termofiliktir ve laboratuvar şartlarına göre 42°C'de inkübasyonu önerilir⁴⁰. *C.conciscus*, *C.rectus*, *C.sputorum* gibi hidrojen gereksinimi olan *Campylobacter* türleri için ideal atmosfer ortamı %6 O₂, %6 CO₂, %3 H₂ ve %85 N₂ olarak belirlenmiştir⁴².

2.6.4. İdentifikasyon

Seçici besiyerlerinde üretilen şüpheli koloniler; koloni morfolojileri, mikroskopik morfolojik özellikleri, oksidaz ve katalaz pozitiflikleri, sefalotin ve nalidiksik asite duyarlılık paternleri ile hippuratu hidrolize edebilme özelliklerini göre identifiye edilirler. Hippurikaz enzimiyle, sodyum hippuratin parçalanarak benzoik asit ve glisine dönüşümü ve ninhidrin ayırıcı yardımıyla, benzoik asitin renk değişiminin sağlanması, bakterinin hippuratu hidrolize ettiğini gösterir. *C.jejuni*'nin büyük çoğunluğu hippuratu hidroliz etse de %5-8 oranında hidroliz etmeyen türleri de bulunmaktadır. Hippurikaz enzimini kodlayan *hipO* geni de, tür ayrımı için PZR yöntemi ile saptanabilir ancak önerilmemektedir⁴³.

2.6.5. Dışkıda Antijen Arama Testleri

Campylobacter türlerinin neden olduğu ishallerin tanısını koymada 30 yıldan uzun süredir kültür kullanılmaktadır. Son zamanlarda; kültür temelli olmayan, doğrudan dışkı örneğinde antijen saptanmasını sağlayan yöntemler de geliştirilmiştir. Hızlı tanı amacıyla; Premier CAMPY EIA (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH), ProSpecT Campylobacter EIA (Remel, Lenexa, KS) gibi immünolojik temelli antijen testleri kullanılmaktadır. Bu iki ticari testte, dışkıda *C.jejuni* ve *C.coli*'ye ait yüzey antijenini tespit eder ancak türler arasında ayırım yapamaz⁴⁴. Her iki testte de *Campylobacter*'lerin yüzey antijenine karşı geliştirilmiş poliklonal antikolar kullanılmaktadır.

2.6.6. Nükleik Asit Amplifikasyon Bazlı Tanı (NAAT)

Campylobacter türlerinin tanımlanması için çeşitli moleküler DNA-bazlı yöntemler de geliştirilmiştir. 16S rRNA geni, *Campylobacter* spp. dâhil birçok bakteri türünün hızlı tanımlanması için kullanılmaktadır. Ancak *C.coli* ve *C.jejuni* gibi birbirine çok benzer dizileri olan türler arasında ayırım yapılamamaktadır. Bunun yerine türler arasında değişkenlik gösteren 23S rRNA gen bölgesi kullanılabilir⁴⁵. Bütün genom DNA hibridizasyon analizi, türlerin tanımlanması için oldukça spesifiktir; ancak yöntem rutin kullanım için uygun değildir⁴⁶. Bunun dışında *cadF*, *hipO*, *ceuE*, *mapA*, *glyA*, *asp* gibi gen bölgeleri de spesifik dizileri hedef alan PZR, multiplex PZR yöntemleriyle tespit edilebilmektedir⁴⁷. Tanıda tek bir gen bölgesinin hedef alınması, yakın ilişkili *Campylobacter* türlerinin sınıflandırılmasında hata yapılmasına neden olabilir. Bu nedenle, birden fazla bölgenin araştırılması ve fenotipik testlerle birlikte yorumlanması önerilmektedir⁴⁶.

2.7. Antimikrobiyal Duyarlılık ve Direnç Mekanizmaları

Campylobacter türlerine bağlı gastroenteritler hafif kendini sınırlayan bir ishalden; yüksek ateş, halsizlik ve kırgınlığın da görüldüğü ciddi fulminan enterokolit şeklinde seyredebilir. Genellikle sadece hidrasyon ile kendi kendini sınırlasa da, bazı durumlarda (immün sistemi baskılanmış, ciddi komplikasyonları olan hastalar vb.) antimikrobiyal tedavi gerekebilir.

Campylobacter enfeksiyonlarının tedavisi için genellikle tercih edilen ilaçlar; eritromisin (makrolid), siprofloksasin (florokinolon) ve tetrasiklidir⁴⁸. Ancak *Campylobacter jejuni*'nin florokinolonlara olan direnci 1990'lardan sonra tespit edilmeye başlanmış, 2000'li yıllarda %40'lara varan oranlar bildirilmiştir⁴⁹. Florokinolonlar dışında yaygın olarak kullanılan klindamisin, streptomisin, eritromisin ve tetrasiklin gibi antimikrobiyal ajanlara karşı da direnç saptanmıştır⁵⁰. Genel olarak; DNA-Gyrase ve Topoizomeraz IV'ün A alt birimlerindeki (GyrA ve ParC) amino asit sübstitüsyonları, kinolon direncinin en önemli mekanizmalarıdır⁶. Ayrıca; sitoplazmik kinolon tutulumundaki değişiklikler ve aktarılabılır kinolon direnç mekanizması; artan kinolon direncinde rol oynamaktadır^{6,7}. Makrolidler, ribozomun 50S alt birimiyle etkileşime girerek protein sentezi ve elangasyonunu inhibe eder. 23S rRNA, L4 veya L22 proteinlerinin etkileşim noktalarındaki değişiklikler, birçok mikroorganizmada

makrolid direncine yol açmaktadır⁸. *Campylobacter* enfeksiyonlarında; tetrasiklin direncine hem *C.jejuni* hem de *C.coli*'de yaygın şekilde bulunan *tet(O)* geni neden olmaktadır⁵¹. Yine; *CmeABC* çoklu ilaç dışa atım pompa mekanizması da florokinolon ve makrolid gibi birçok antimikrobiyal ajanlara direnç gelişiminde ana mekanizmalardan biridir^{52,53}.

Güncel tüm genom sekanslama (Whole Genome Sequencing) çalışmaları neticesinde oldukça hızlı bir şekilde çeşitli bakteri gruplarının direnç genotipleri büyük bir hassasiyet ile belirlenmiştir⁶². Örneğin Zhao ve arkadaşlarının 114 *Campylobacter* spp. örneği üzerinde yaptığı çalışma neticesinde; 18 farklı direnç geni ile birlikte dirence neden olan mutasyonlar saptanmıştır. Bu direnç genlerinden 14'ü, aminoglikozid direnç genleri olup; özellikle APH(2'') ailesi, *Campylobacter* alt türlerinde %26'dan %52'ye kadar benzer şekilde korunmuş olup; aminoglikozid sınıfı antimikrobiyallerine karşı dirençten sorumlu olduğu söylenmiştir⁶³. Bazı direnç genleri; makrolid (M), linkosamid (L) ve ketolide (K) olmak üzere M-L-K antimikrobiyallerinin ortak bağlanma noktalarında (23S rRNA) değişikliklere neden olarak, bu gruba karşı, ek olarak streptogramins ve oksazolidinonlara karşı olan duyarlılığı düşürür. Bunu birkaç yöntem ile yapabilmekle birlikte; 23S rRNA bölgesinin rRNA metilaz genleri (*erm*) tarafından metilasyonu, *23R rRNA* genlerinde nokta mutasyonları, L4, L22 ve pompa kanallarında meydana gelen mutasyonlar neden olabilmektedir⁶⁴. Özellikle; 23S rRNA'nın 2074 ile 2075 bölgelerinde meydana gelen nokta mutasyonların, M-L-K sınıfı antimikrobiyallere karşı dirence neden olduğu kaydedilmiştir⁶³. Diğer yandan; *GyrA* gen bölgesinde T86I'da meydana gelen tek bir mutasyon; tüm florokinolon antimikrobiyal grubuna duyarlılığı 4 kattan 128 kata kadar düşürdüğü tespit edilmiştir⁶⁵. Ayrıca; daha önce bahsedilen *tetO* genine ek olarak, bazı kloramfenikole dirençli *Campylobacter* gruplarında *catA* genine; linkomisine dirençli *Campylobacter* gruplarında ise *InuC* genlerine rastlanmıştır⁶³.

2.8. Bulaş Yolları ve Önlemler

Campylobacter türleri; sığır, koyun, domuz gibi hayvanların bağırsaklarında yaygın olarak bulunsa da, yüksek vücut sıcaklıklarından dolayı en çok kanatlılarda bulunmaktadır. Dünya genelinde hızla gelişen gıda endüstrisi tavuk tüketimini artırmış ve birçok kez akut *Campylobacter*

gastroenterit salgınlarına neden olmuştur. Özellikle tavuk bağırsağının kolon ve çekum bölgesi çok sayıda *Campylobacter* spp. barındırır. Kesim ve temizleme sırasındaki herhangi bir sızıntı nedeniyle bütün gıda kontamine olabilir. Kontamine olan tek bir gövde bile çapraz kontaminasyon için risk oluşturur ve bakteri 4°C'de bile yaşamını sürdürebilir³. Kanatlı hayvan tüketiminin yanında; çiğ süt, arıtılmamış su veya yağmur suyu tüketimi ve kabuklu deniz canlıları tüketimi de kampilobakteriyozis salgınlarına neden olmuştur⁵⁴⁻⁵⁶. Çiftlik çalışanlarına verilecek eğitimlerle *Campylobacter* enfeksiyonlarında düşüş sağlanabilir. Çiftlik içerisinde temiz ve kirli alanların birbirinden ayrılması, kirli alana giriş çıkışlarda çizme ve tulumların değiştirilmesi, el yıkama eğitiminin verilmesi gibi bir dizi önlemler alınmalıdır. Yemlerdeki hayvansal proteinlerin azaltılması ve hayvan sularının temiz olması da sağlanmalıdır. Yine yemlerde kullanılan antibiyotikler, insanlarda direnç neden olduğu için büyük oranda terkedilmiştir. Bunun yerine laktik asit ve kompleks polisakkarit içeren probiyotikler kullanılabilir. *Campylobacter* gastroenteritini önlemede en önemli basamak ise hayvan kesimi ve gıdanın işlenmesidir. İşlem esnasında tüm hijyen kurallarına uyulmalı, gıda bol suyla yıkanmalı ve pişirilinceye kadar buzdolabında tutulmalıdır³.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu tez çalışması Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 2018-2-TP3-2930 no'lu BAP proje desteği ile yapılmıştır. Çalışma 26/04/2018 tarihli 2018/195 sayılı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayını almıştır.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Cihazlar

- ✓ Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)
- ✓ Biyogüvenlik kabini (Nuair NU 425-300E Class II, ABD)
- ✓ Hassas terazi (Sartorius BL310, Almanya)
- ✓ Distile su cihazı (Millipore, Fransa)
- ✓ Soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich- Micro 200R, Avusturalya)
- ✓ Midi santrifüj (Avusturalya)
- ✓ Vortex (Nüve NM- 110, Türkiye)
- ✓ Sıcak su banyosu (Nüve BM 402, Türkiye)
- ✓ +4°C'lik soğutucu (Ariston, Türkiye)
- ✓ -20°C'lik Derin dondurucu (Heto, Çin)
- ✓ Otoklav (Hirayama- HA-300 M4, Japonya)
- ✓ Pasteur fırını (Mermert UE 500, İngiltere)
- ✓ Elektrik ocağı (Beko, 0.710, Türkiye)
- ✓ Işık mikroskobu (Olympus, Japonya)
- ✓ pH metre (Hanna, İtalya)
- ✓ Mikrodalga Fırın (Beko-MD 1500, Türkiye)
- ✓ Mikropipet Seti (Biohit, Proline 0,5 µL-1000 µL, Finlandiya)
- ✓ PZR cihazı (Thermal Cycler, Eppendorf Mastercycler, Almanya)
- ✓ Elektroforez Tankı (Agagel Mini Biometra, Almanya)
- ✓ Elektroforez Güç Kaynağı (Biometra P30, Almanya)
- ✓ Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, Fransa)

3.1.2. Kimyasal Malzemeler

- ✓ Tris-hidroklorid (Sigma, T-5941, Lot 31 K5466)

- ✓ Etilen diamin tetra asetik asit disodyum salt dihydrate (EDTA) (Sigma, E5134)
- ✓ Sodyum dodezil sülfat (SDS) (Merck, L51736210)
- ✓ Magnezyum klorid (MgCl₂) (Promega, A351H)
- ✓ Tris-baz (Sigma-Aldrich-T8937)
- ✓ Borik asit (Merck K29935665 204)
- ✓ Brom fenol mavisi (SCP Science B7722)
- ✓ Etanol absolut (Riedel de Haën/ Lot 32221)
- ✓ Sükroz (Merck 1.07651)
- ✓ Fenol kristalleri (Sigma P-1039, USA)
- ✓ Kloroform (Merck)
- ✓ Agaroz (Sigma, A-5093)
- ✓ Taq DNA Polimeraz (Promega M1665)
- ✓ 10x PCR Buffer (Mg Free) (Promega M190G)
- ✓ 5 mM MgCl₂ (Promega A351H)
- ✓ 10 mM dNTP Mix (Sigma Deoxynucleotide set DNTP-100)
- ✓ Carry-Blair besiyeri
- ✓ Modifiye *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar (Merck, VM830670716)
- ✓ %95'lik etil alkol (Sigma E-285 USA)
- ✓ H₂O₂ (Sigma H6520 USA)
- ✓ Gliserol (Sigma G516 USA)
- ✓ Aseton (Merck 1.00014.2500)
- ✓ Sodyum hippurat (C₉H₈NNaO₃)
- ✓ Butanol (Merck 1.01990.2500)
- ✓ Ninhidrin (Merck 1.06762)
- ✓ DNase, RNase Free Su
- ✓ Primerler

C.coli: (5'- GTAAAACCAAAGCTTATCGTG -3') ve (5'- TCCAGCAATGTGTGC AATG -3')

C.jejuni: (5'- CTATTTTATTTTTGAGTGCTTGTG -3') ve (5'- GCTTTATTTGCC ATTTGTTTTATTA - 3')

gyrA: (5'-ATGATGAGGCCAAAAAGAGA-3') ve (5'-TAAACTATGAGGTGGGATG
T-3')

23S *rRNA*: (5'-GTAAACGGCGGCCGTA ACTA-3') ve (5'-GACCGAACTGTCTC
ACGACG -3')

cadF: (5'-TTGAAGGTAATTTAGATATG-3') ve (5'-CTAATACCTAAAGTTGAAA
C-3')

cdtABC: (5'-GGAAATTGGATTTGGGGCTATACT-3') ve (5'-TTGCACATAACCA
AAAGGAAG-3')

3.2. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar

3.2.1. Cary-Blair Medium

Örneklerin taşınmasında ve ekim yapılıncaya kadar geçen sürede Carry-Blair Medium (Oxoid, CM0519, Hampshire, İngiltere) besiyeri kullanıldı. Ticari olarak satın alınan toz besiyeri 1 lt distile su dolu balon jöle içerisinde ısıtılarak eritildi. pH 8.4'e ayarlanıp otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi ve her birinde 7 ml besiyeri olacak şekilde, vida kapaklı steril cam tüplere aktarıldı. Kullanıncaya kadar +4°C'de saklandı.

Her bir litre için besiyeri içeriği:

✓ Disodyum hidrojen fosfat	1.1 gr
✓ Sodyum tioglikolat	1.5 gr
✓ Sodyum klorid	5.0 gr
✓ Kalsiyum klorid	0.09 gr
✓ Agar	5.6 gr

3.2.2. Modified Charcoal Cefoperazon Deoxycholate Agar (mCCDA)

Campylobacter spp. üretimi için piyasadan hazır olarak temin edilen mCCDA (Modified Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar) (Oxoid, CM0739B, Hampshire, İngiltere) besiyeri kullanıldı. Her bir paket için kontaminasyon kontrolleri yapıldıktan sonra, üretici firma önerileri doğrultusunda +4°C'de saklandı. Besiyeri içeriği:

✓ Nutrient broth No 2	25.0 gr
-----------------------	---------

✓ Bakteriyolojik charcoal	4.0 gr
✓ Kazein hidrolizat	3.0 gr
✓ Sodyum deoksikolat	1.0 gr
✓ Ferröz sülfat	0.25 gr
✓ Sodyum pürivat	0.25 gr
✓ Agar	12.0 gr

mCCDA selective supplement (Oxoid, SR0155E, Hampshire, İngiltere)
içeriği:

✓ Sefoperazon	32mg
✓ Amfoterisin B	10 mg

3.2.3. MHF (Mueller Hinton Fastidious) Agar Besiyeri

Üreyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık testleri için, MHF (Mueller Hinton Fastidious) agar besiyeri kullanıldı. Belirtilen reaktifler 1 lt distile su içinde eritildi ve pH 7.3'e ayarlanıp otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildi. Her birinde 20 ml besiyeri olacak şekilde steril petri kaplarına aktarıldı. Daha sonra buzdolabında +4°C'de saklandı. Kontaminasyon kontrolü için 2 adet besiyeri 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

1 litre distile su için içerik:

✓ Sığır eti ekstraktı	2.0 gr
✓ Kazein asit hidrozilati	17.5 gr
✓ Nişasta	1.5 gr
✓ Agar	17.0 gr
✓ Nikotinamid dinükleotid	0.02 gr
✓ Defibrinleştirilmiş at kanı	50 ml

3.2.4. Oksidaz Ayıracı

✓ Tetramethyl-1,4-phenylenediamine (Sigma,T7394)	0,1 gr
✓ Distile su	10 ml

Tetramethyl-p-phenylenediamine distile su ile karıştırıldı. Işık geçirmeyen kapaklı cam şişelere koyuldu ve kullanılına kadar +4°C'de saklandı.

3.2.5. Katalaz Ayıracı

✓ Hidrojen peroksit (%100)	0.3 ml
✓ Distile su	10 ml

Hidrojen peroksit distile suya ilave edilip kapaklı cam şişelere konuldu ve kullanılabildiği kadar 4°C'de saklandı.

3.3. Yöntem

3.3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

Çalışmamıza 1 Ekim 2018 - 1 Nisan 2019 tarihleri arasında, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi ilgili polikliniklerinden ve yatan hastalardan; anamnez ve klinik bulguları ile (ishal, bulantı, kusma, halsizlik, kırgınlık, kümes hayvanı tüketme öyküsü) *Campylobacter* spp. kaynaklı ishal olabileceği düşünülen 401 hasta örneği dahil edildi. Örnekler alındıktan sonra 30 dakikayı geçmemek kaydıyla; temiz ve geniş ağızlı, ağzı sıkıca kapanabilen kaplarda kabul edildi. Hastaların yaş ve cinsiyetleri, hangi klinik branşa başvurdıkları sistemden sorgulanarak, gerekli veriler toplandı. Örnekler mikroskopik olarak değerlendirildikten sonra dışkıda eritrosit ve lökosit olup olmadığı kayıt altına alındı. İnceleme sonrası ekim işlemi yapıldı. 2 saat içerisinde kültürü yapılmıyorsa, Cary Blair-Medium taşıma besiyerine alınarak +4°C'de bekletildi.

3.3.2 Örneklerin Ekimi ve İnkübasyonu

Toplanan örneklerin mikroskopik incelenmesi tamamlandıktan sonra kültür işlemine geçildi. Ticari olarak satın alınan mCCDA seçici besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle ekimi yapıldı. Daha sonra besiyeri plakları 2,5 lt'lik anaerob jar içerisine konup, mikroaerofilik ortam sağlayıcı Campy-Gen (Oxoid Hampshire, İngiltere) gaz paketleri (%5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂) eklenerek 42°C de 48-72 saat boyunca inkübe edildi. Kültür plakları üreme yönünden her gün takip edildi ve üreme olmayanların 96 saat sonunda kültür işlemi sonlandırıldı.

3.3.3. Kültürlerin Değerlendirilmesi

Seçici besiyerinde; 0.5 mm çapında, düzgün yuvarlak yüzeyli, gri renkte görünen koloniler *Campylobacter* şüphesiyle katalaz ve oksidaz testine tabii

tutuldu. Her 2 test sonucu pozitif kabul edilen örneklerden hazırlanan yayma preperatlar, Gram boyama yöntemiyle boyandı. Işık mikroskobu altında 100x büyütme ve immersiyon yağıyla incelenen preperatlarda; Gram negatif, kıvrık veya S şeklinde görünen bakteriler *Campylobacter* ön tanısı ile saf olarak elde etmek için yeniden seçici besiyerine pasajlandı.

Saf olarak elde edilen koloniler; sefalotin, nalidiksik asit, eritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin gibi antibiyotik duyarlılıkların tespit edilmesi amacıyla MHF agara ekimi yapıldı. Yine, saf pasajlarından elde edilen koloniler daha sonra canlandırılmak ve moleküler testlerde kullanılmak üzere %15'lik gliserollü besiyerine 3-4 McFarland bulanıklılık derecesi olacak şekilde ekilerek -20°C'de saklandı.

3.3.3.1. Oksidaz Testi

Tetramethyl-p-phenylenediamine, distile su ile karıştırılıp ışık geçirmeyen kapaklı cam şişelerde saklandı. Daha önceden kesilip steril edilen filtre kağıtları, temiz olduğu bilinen lamaların üzerine konuldu. Üzerine birkaç damla oksidaz ayırıcı damlatılan filtre kağıtlarına, steril plastik öze yardımıyla alınan şüpheli koloniler sürüldü. Koloni sürülen bölgede yaklaşık 5-10 saniye içerisinde oluşan mor veya koyu mavi renk pozitif olarak kabul edildi. Besiyerinde bulunan katkı maddesi ve boyalar yalancı pozitifliğe neden olabileceği için, koloniler alınırken özenin besiyerine temas etmemesine özen gösterildi⁵⁷.

3.3.3.2. Katalaz Testi

Distile su ile karıştırılıp daha önceden hazırlanan %3'lük hidrojen peroksitten, temiz bir lam üzerine 1-2 damla konuldu. Şüpheli koloni, steril öze yardımı ile alınarak hidrojen peroksite karıştırıldı. Gaz kabarcıklarının oluşumunun görülmesiyle test pozitif kabul edildi⁵⁷.

3.3.3.3. Sefalotin ve Nalidiksik Asit Duyarlılık Testi

Campylobacter spp. ön tanılı saf kolonilerden, bir öze dolusu alınarak serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer yoğunlukta bakteri süspansiyonu elde edilene kadar homojenize edildi ve 90 mm'lik MHF agar besiyerine steril pamuk uçlu eküvyon yardımıyla ekim kurallarına uygun olarak, besiyeri yüzeyine ekim yapıldı. Plaklar kısa bir süre oda ısısında kurumaya bırakıldıktan sonra, 30 µg nalidiksik asit ve 30 µg

sefalotin içeren diskler, steril bir pens yardımı ile yerleştirildi. Besiyerleri mikroaerofilik ortamda, 42°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda, disk etrafında inhibisyon zon çapları cetvelle ölçüldü. Sefalotin için 14 mm ve üzeri çapa sahip koloniler, Nalidiksik asit için ise 10 mm ve üzeri çapa sahip koloniler duyarlı olarak değerlendirildi.

3.3.4 Antibiyotik Duyarlılıklarının İncelenmesi

Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) *Campylobacter* türlerinin antimikrobiyal duyarlılığını belirlemede; disk difüzyon veya mikrodilüsyon yöntemini önermektedir. Üreyen kolonilerden, 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer yoğunlukta bakteri süspansiyonu, 20 mg/L β-NAD eklenmiş %5 at kanlı MHF agar besiyerinin yüzeyine sürüldü ve EUCAST kılavuzunda çalışılması önerilen eritromisin 15 µg, tetrasiklin 30 µg ve siprofloksasin 5 µg (Oxoid, Hampshire, İngiltere) diskleri yerleştirildi. Mikroaerofilik ortamda 42°C de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bu antibiyotikler için, kılavuzda standardize edilmiş zon çapları ile karşılaştırılarak bakterinin duyarlılık durumu belirlendi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. *C.jejuni* ve *C.coli* için EUCAST Klinik Sınır Değer Tablosu

	MİK Sınır Değeri (mg/L)		Disk İçeriği (µg)	Zon Çapı Sınır Değeri (mm)	
	S ≤	R>		S ≥	R<
Siprofloksasin	0.5	0.5	5	26	26
Eritromisin, <i>C.jejuni</i>	4	4	15	20	20
Eritromisin, <i>C.coli</i>	8	8	15	24	24
Tetrasiklin	2	2	30	30	30

3.3.5. Moleküler Uygulamalar

Campylobacter türlerinin moleküler yöntemlerle identifikasyonu için *glyA* ve *mapA* genlerinin araştırıldığı in-house PZR yöntemi uygulandı^{59,60}. Ayrıca direnç genleri olan 23S *rRNA* ve *gyrA*, virulans faktörleri *cadF*, *cdtABC* gen bölgeleri de aynı yöntemle araştırıldı⁶⁰.

3.3.5.1. DNA Ekstraksiyonu

Seçici besiyerinde üreyen *Campylobacter* türlerinden, hızlı DNA izolasyon metoduyla ekstraksiyon yapıldı. Üreyen bakteri kolonilerinden bir öze dolusu alınarak, 1.5 ml'lik plastik tüplerde, 1 ml steril distile su içerisinde süspansiyon edildi. Tüpler, 80°C'de 20-30 dakika tutularak (su banyosu) bakterilerin parçalanması sağlandı. Süre sonunda tüpler, su banyosundan çıkarılarak oda ısısına gelmesi bekledi. Daha sonra ependorf tüpü 12.000x gravity (g)'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Pellet üzerine 200 µl kloroform ve 200 µl steril distile su ilave edildikten sonra karışım 12.000x g'de 10 dakika tekrar santrifüj edildi ve süpernatant PZR reaksiyonunda kalıp olarak kullanıldı⁶¹.

3.3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Campylobacter türlerini tanımlamak için in-house PZR yöntemi kullanıldı. *Campylobacter jejuni* için *mapA* gen bölgesi, *Campylobacter coli* içinse *glyA* gen bölgesi araştırıldı. Ayrıca direnç genleri olan 23S rRNA ve *gyrA*, virulans faktörleri *cadF*, *cdtABC* gen bölgeleri de aynı yöntemle araştırıldı. Eş zamanlı amplifikasyon için kullanılan spesifik primer bölgeleri Tablo 3.2.'de gösterildi.

Tablo 3.2. Spesifik Primerler¹²⁷⁻¹²⁹

Gen Bölgesi	Reverse	Forward	Baz Çifti (bç)	Annealing Isısı (°C)
<i>glyA</i>	5'- GTAAAACCAAAGCTTAT CGTG-3'	5'- TCCAGCAATGTGTGCAATG -3'	126	55
<i>mapA</i>	5'- CTATTTTATTTTGTAGT GCTTGT G-3'	5'- GCTTTATTTGCCATTTGTTTTA TTA -3'	589	55
<i>gyrA</i>	5'- ATGATGAGGCAAAAAG AGA-3'	5'- TAAACTATGAGGTGGGATGT- 3'	410	55
23S rRNA	5'- GTAAACGGCGGCCGTA ACTA-3'	5'- GACCGAACTGTCTCACGACG- 3'	699	52
<i>cadF</i>	5'- TTGAAGGTAATTTAGAT ATG-3'	5'-CTAATACCTAAAGTTGAAAC- 3'	400	45
<i>cdtABC</i>	5'- GGAAATTGGATTTGGG GCTATAC T-3'	5'- TTGCACATAACCAAAAAGGAA G-3'	1215	55

Amplifikasyon; 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 25 pmol, 2,5 U *Taq* polymerase ve 50ng/5µl kalıp DNA içeren, toplam 50 mikrolitre PZR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları Thermal Cycler, Eppendorf Mastercycler cihazında tamamlandı.

Isı döngü programı;

- ✓ Ön denatürasyon: 95°C'de 10 dakika
 - ✓ Denatürasyon: 95°C'de 45 saniye
 - ✓ Birleşme: 55 °C'de 1 dakika
 - ✓ Uzama: 72 °C'de 1 dakika
 - ✓ Son uzatma: 72°C'de 7 dakika
- } 35 döngü

Görüntüleme için 7 µl PZR ürünü etidyum bromür (Sigma E-1510) içeren %1'lik agaroz jel içerisinde boyandıktan ve 130 voltluk akımda (Thermo EC 135-90) 40 dakika yürütüldükten sonra, ultraviyole transilluminatörde bant oluşumu değerlendirildi.

3.3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 14.01 (Serial: 9869264) paket programı kullanıldı. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine göre elde edilen niteliksel verilerin istatistiksel karşılaştırmasında Kikare (X²) testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Özellikleri

Bu çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde Ekim 2018-Nisan 2019 tarihleri arasında, ilgili polikliniklerinden ve yatan hastalardan anamnez ve klinik bulguları ile (ishal, bulantı, kusma, halsizlik, kırgınlık, kümes hayvanı tüketme öyküsü) *Campylobacter* spp. kaynaklı ishal olabileceği düşünülen 401 hasta örneği dahil edildi. Çalışmaya alınan hasta örneklerinin 230'u (%57.3) erkek, 171'i (%42.7) kadın hastalardan oluşmaktadır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1: Örneklerin Cinsiyete Göre Dağılımı

Cinsiyet	Sayı (n)	Yüzde (%)
Erkek	230	57.3
Kadın	171	42.7

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş aralığı 0-95 olmakla birlikte, yaş gruplarına göre dağılım incelendiğinde; 0-5 yaş arası 123 (%30.6) örnek, 5-18 yaş arası 138 (% 34.4) örnek ve 18-95 yaş arası 140 (% 35) örnek çalışılmıştır (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Örneklerin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş Grubu	Sayı (n)	Yüzde (%)
0-5	123	30.6
5-18	138	34.4
18-95	140	35

4.2. Mikroskopik İnceleme, Kültür ve PZR Sonuçları

Çalışmaya dâhil edilen 401 dışkı örneğinin mikroskopik incelemesinde 280 (%69.9) örnekte eritrosit ve/veya lökosit tespit edilmiş, 121 (%30,1) örnekte ise eritrosit ve/veya lökosit görülmemiştir.

Çalışmadaki 401 örneğin 166'sı (%41.4) önce Cary Blair-Medium taşıma besiyerine alınarak, 235'i (%58.6) ise doğrudan mCCDA seçici besiyerine

inoküle edilerek bakteri kültürü yapılmış ve 44 (%10.9) örnekten *Campylobacter* spp. izole edilmiştir. Bu izolatlara uygulanan PZR yöntemi ile örneklerin 36'sı (%81,8) *C.jejuni*, 6'sı (%13,6) *C.coli* ve diğer 2'si (%4,6) ise *Campylobacter* spp. (*C.jejuni* ve *C.coli* dışı) olarak tanımlanmıştır.

Eş zamanlı olarak; bakteriyoloji laboratuvarımıza toplam 568 hastadan 702 dışkı örneği gönderilmiş ve *Salmonella* spp., *Shigella* spp. üretilmesi amaçlanmıştır. Ancak bu 702 hasta örneğinin sadece 1'inde *Salmonella* spp. saptanmış, diğerleri 'Normal Bağırsak Florası üredi (*Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. üremedi)' olarak raporlanmıştır.

Üreme görülen örneklerde cinsiyet dağılımı benzerlik göstermiştir ($p>0,05$). Kadın ve erkeklerde üreme oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Pozitif Örneklerin Cinsiyete Göre Dağılımı

Cinsiyet	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>Erkek</i>	28	63,06
<i>Kadın</i>	16	36,4
<i>Toplam</i>	44	100,0

Üreme görülen örneklerin servislere göre dağılımı benzerlik göstermemiştir ($p<0,05$). Üremenin en sık görüldüğü servis olan çocuk acilde görülme oranı diğer servislere göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Pozitif Örneklerin Servislere Göre Dağılımı

Servis	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>Çocuk Acil</i>	30	68,2
<i>Diğer</i>	14	31,8
<i>Toplam</i>	44	100,0

Campylobacter spp pozitif örneklerin 25'i doğrudan 19'u ise Cary Blair-Medium besiyerinden yapılan kültür sonucu izole edilmiştir. Üreme görülen örneklerin ekim yöntemine göre dağılımı benzerlik göstermiştir ($p>0,05$).

Doğrudan ekim yapılanlarla, Cary Blair-Medium'a ekim yapılanların üreme oranları istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Pozitif Örneklerin Ekim Şekline Göre Dağılımı

Ekim Şekli	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>Doğrudan Ekim</i>	25	56,8
<i>Cary Blair-Medium</i>	19	43,2
<i>Toplam</i>	44	100,0

Campylobacter pozitif dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesinde; 41 (%93.2) örnekte eritrosit ve/veya lökosit görülürken 3'ünde (%6.8) görülmemiştir. Üreme görülen örneklerin mikroskopiye göre dağılımı benzerlik göstermemiştir ($p<0,05$). Hem eritrosit hem de lökositin aynı anda görülme oranı diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bunu sırasıyla; sadece lökosit, sadece eritrosit ve negatif grubu izlemektedir (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Pozitif Örneklerin Eritrosit/Lökosit Görülme Oranları

Mikroskopi	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>Sadece Eritrosit</i>	4	9,1
<i>Sadece Lökosit</i>	15	34,1
<i>Her İkisi</i>	22	50,0
<i>Negatif</i>	3	6,8
<i>Toplam</i>	44	100,0

Campylobacter izole edilen 44 hastanın yaş aralığı 6 ay ile 62 yaş arasında değişmektedir. Pozitif hastalar yaş gruplarına göre incelendiğinde 0-5 yaş grubunda 13 (%29.5) hasta, 5-18 yaş grubunda 25 (%56.8) hasta ve 18-95 yaş grubunda ise 6 (%13.7) hasta da *Campylobacter* izole edilmiştir. Üreme görülen örneklerde yaş dağılımı benzerlik göstermemiştir ($p<0,05$). Üremenin en sık görüldüğü 5-18 yaş grubunun oranı diğer yaş gruplarına göre daha yüksektir (Tablo 4.7.).

Tablo 4.7. Pozitif Örneğe Sahip Hastaların Yaş Dağılımı

Yaş	Sayı (n)	Yüzde (%)
0-5	13	29,5
5-18	25	56,8
≥18 Yaş	6	13,06
Toplam	44	100,0

Campylobacter izolatlarının konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonunda kullanılan nalidiksik asit ve sefalotin testi değerlendirildiğinde; izolatların tamamı sefalotine dirençliken, PZR ile *C.coli* olarak tanımlanan 6 suşun 2'si nalidiksik aside duyarlı 4'ü dirençli bulunmuştur. *C.jejuni* olarak tanımlanan 36 suşun 6'sı nalidiksik aside duyarlı 30'u dirençli tespit edilmiştir. Diğer *Campylobacter* spp. olarak tanımlanan diğer 2 suş ise hem nalidiksik aside hem de sefalotine dirençli bulunmuştur (Tablo 4.8.).

Tablo 4.8. İzolatların Nalidiksik Asit ve Sefalotin Testi Sonuçları

	Nalidiksik Asit		Sefalotin	
	R(n)	S(n)	R(n)	S(n)
<i>C.jejuni</i>	30	6	36	0
<i>C.coli</i>	4	2	6	0
<i>Campylobacter</i> Spp.	2	0	2	0
Toplam	36	8	44	0

4.3. *Campylobacter* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Çalışmada izole edilen 44 *Campylobacter* (36 *C.jejuni*, 6 *C.coli* ve 2 *Campylobacter* spp.) izolatının eritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile uygulanmıştır. 44 izolatın tamamı siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Tetrasiklin direnci 43 izolatta saptanırken sadece 1 *C.jejuni* izolatı tetrasikline duyarlı tespit edilmiştir.

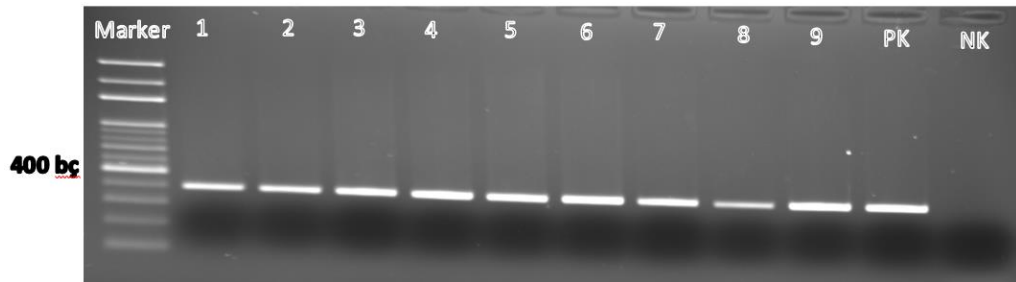
Eritromisin direnci ise 4 izolatta görülmüştür ve bu izolatların 3'ü *C.coli*, 1'i *C.jejuni* olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.9.).

Tablo 4.9. İzolatların Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

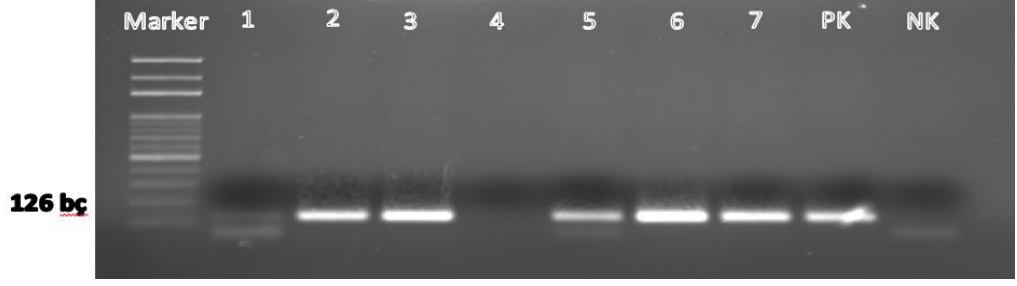
	Siprofloksasin		Tetrasiklin		Eritromisin	
	R (n)	S (n)	R (n)	S (n)	R (n)	S (n)
<i>C.jejuni</i>	36	0	35	1	1	35
<i>C.coli</i>	6	0	6	0	3	3
<i>Campylobacter Spp.</i>	2	0	2	0	0	2

4.4. Direnç Genleri ve Virulans Faktörlerinin Saptanması

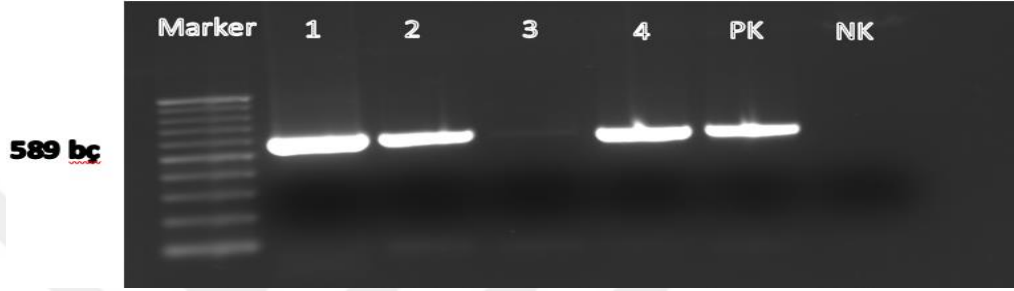
Çalışmada *Campylobacter* türlerinin moleküler yöntemlerle identifikasyonu için *glyA* ve *mapA* genlerinin araştırıldığı in-house PZR yöntemi uygulandı (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.). Bunlara ek olarak; direnç genlerinden 23S *rRNA* ve *gyrA*, virulans faktörleri *cadF*, *cdtABC* gen bölgeleri de aynı yöntem kullanılarak araştırıldı. Bunun sonucunda; 44 *Campylobacter* izolatının 40'ında (% 90,9) 23S *rRNA* bulunurken, 21 izolatta (% 47,7) da *gyrA* genleri tespit edilmiştir. Diğer yandan; 44 izolatın 34'ünde (% 77,3) *cadF* geni bulunurken, 24'ünde (% 54,5) *cdtABC* genine rastlanmıştır (Tablo 4.10. ve Tablo 4.11.)



Şekil 4.1. *cadF* geni PZR görüntüsü, ilk 9 hasta pozitif, 10. pozitif kontrol, 11. negatif kontrol (*cadF*=400 bç)



Şekil 4.2. *glyA* geni PZR görüntüsü, 1. ve 4. örnek negatif olurken, diğer örneklerde pozitifdir, 8. pozitif kontrol, 9. negatif kontrol (*glyA*=126 bç)



Şekil 4.3. *mapA* geni PZR görüntüsü, 3. örnek negatif olurken, diğer örneklerde pozitifdir, 5. pozitif kontrol, 6. negatif kontrol (*mapA*=589 bç)

Tablo 4.10. *Campylobacter* izolatlarının direnç genleri dağılımı

	23S rRNA		gyrA	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
<i>C.jejuni</i>	33	3	19	17
<i>C.coli</i>	6	0	2	4
<i>Campylobacter Spp.</i>	1	1	0	2
Toplam	40	4	21	23

Tablo 4.11. *Campylobacter* izolatlarının virülans genleri dağılımı

	<i>cadF</i>		<i>cdtABC</i>	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
<i>C.jejuni</i>	34	2	24	12
<i>C.coli</i>	6	0	0	6
<i>Campylobacter Spp.</i>	0	2	0	2
Toplam	40	4	24	20



5. TARTIŞMA

Dünya genelinde, gıda kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlara en sık olarak neden olan *Campylobacter* cinsi bakteri grubu olduğu bilinirken, bu enfeksiyonların önemli bir kısmından da *C.jejuni* sorumludur. 2. sıklıkta izole edilen *Campylobacter* türü olan *C.coli* ile birlikte bu enfeksiyonların neredeyse % 95'inden sorumlu olduğu fark edilmiştir⁶⁶. Bu 2 türe ek olarak; yapılan detaylı çalışmalar neticesinde başka *Campylobacter* türlerinin de ishalleri hasta gruplarında bulunabileceğini, yalnızca bu türlerin izolasyonu için gerekli kültür ortamlarının oluşturulması gerektiği iddia edilmiştir^{67,68}. *Campylobacter* cinsi ile ilgili taksonomik çalışmalar devam etmekte olup, çalışmalar neticesinde tür sayısı zamanla artmaktadır, günümüzde 14 alttür ile birlikte 33 türü olduğu fark edilmiştir¹²⁴.

Kanada Ulusal Enterik Sürveyans Programı'nın 2014 raporuna göre; insanlardan izole edilen enterik patojenlerden % 11.8'ini *Campylobacter* türleri oluştururken, Amerika'da toplanan verilere göre ise; kampilobakteriyozis 2. en sık gastroenterit sebebi olarak kaydedilip önemli oranda gıda kaynaklı hastalıklara ve ölümlere neden olduğu özetlenmiştir⁹². İnsanlarda çoğu *Campylobacter* enfeksiyonunun kontamine olmuş çiğ veya az pişmiş kümes hayvanları etinin tüketimi ile ilişkisi olduğu kaydedilmiştir⁹³. Ancak; kümes hayvanları etinin yanı sıra; sığır eti ve kıyması ve domuz eti kaynaklı *Campylobacter* enfeksiyonları da gözlenmiştir⁹⁴.

Campylobacter sıklıkla çocukluk ya da 15 ile 29 yaşları arası olmak üzere ortaya çıkmaktadır⁶⁹. Bizim verilerimiz incelendiğinde ise çalışmaya dâhil edilen 44 hasta örneğinden sadece 2'si 29 yaşından büyük olmakla birlikte; 25 tanesi (% 56,8) 10 yaş ve altıdır.

Çalışmamıza dâhil edilen 401 dışkı örneğinin yalnızca 44 (%10.9) örnekten *Campylobacter* spp. izole edilebilmiştir. Bunlardan ise 36'sı (% 8,98) *C.jejuni*, 6'sı (% 1,50) *C.coli* ve diğer 2'si (% 0,50) ise *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı. Bizim izolasyon oranımıza oldukça benzer bir şekilde; ülkemizde yürütülen ishalleri hasta örnekleri ile yapılan çalışmalardan birinde; incelenen 875 dışkı örneğinden Skirrow besiyeri kullanılarak %10,1 örnekte *Campylobacter* spp. izole edilebilmiştir⁷⁰. Ancak; İstanbul'da gerçekleştirilen ve 5 yıllık uzun vadeli örnek toplamayı içeren başka bir kapsamlı çalışmada; Butzler selektif besiyeri kullanılarak %1,2 oranında *Campylobacter* izole

edilebilmiştir⁷¹. Bu çalışmaya benzer şekilde; Amerika'da yürütülen oldukça geniş kapsamlı başka bir çalışmada, ishal şikâyeti ile gelen pediatrik hasta örneklerinden %1,5 *C.jejuni* izole edilebilmiştir⁷². İshalli hasta dışkılarından *Campylobacter* izolasyonunu araştıran başka bir çalışmada ise, otomatize multipleks PZR kullanılarak 436 örnekten %44,2'sinde *Campylobacter* izole edilebilmiştir. Bu çalışmada da önceki çalışmalara benzer şekilde, izole edilen suşlardan %50'si *C.jejuni* olurken, %41.9'u *C.ureolyticus*, % 5,8'i *C.coli*; kültür negatif örneklerde ise %10'u ise *C. fetus*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* ve *C. lari* olarak tespit edilmiştir¹²⁶.

Hasta örneklerinden izole edilecek olan mikroorganizmaların tanısı için seçici kültür metotları ile izolasyon ve identifikasyon oldukça önemli olmakla birlikte; örneklerin alınıp laboratuvar ortamına taşınması, taşınma süresi, laboratuvarda değerlendirilene kadar kaldığı süre izolasyonun hassasiyetini oldukça etkilemektedir. Buna bağlı olarak; farklı merkezlerde gerçekleştirilen izolasyon sonuçlarının, kullanılan identifikasyon veya besiyerine bağlı olarak değişiklik göstermesi beklenmektedir.

Campylobacter türleri güç ve aynı zamanda geç üreyen bakterilerdir. *Campylobacter*'ın dışkı örneklerinden izolasyonu için, hastanın florasında olan ve *Campylobacter*'den daha hızlı üreyip kültür ortamını domine edebilecek olan mantar ve bakterilerin üremesine engel olmak için, değişen konsantrasyonlarda ve türlerde antibiyotik, şarkoal veya antimikotikler gibi antimikrobiyaller ihtiva eden seçici besiyerleri kullanılır. Dolayısıyla; bir yandan metabolizmalarını sağlamak amacıyla; demir sülfat, kan, sodyum purivat, kazein, kömür ve hematin benzeri maddeler kullanılırken, barsak florasının baskılamak için ise; kolistin, sefalotin, novobiyosin, trimetoprim, basitrasin, polimiksin B, vankomisin, rifampin, sikloheksimid ya da sefoperazon, amfoterisin B benzeri antimikrobiyaller kullanılır⁴⁰.

Bu enfeksiyonların kesin tanısı ancak mikrobiyolojik inceleme ile gerçekleştirilebilir olup, dolayısıyla seçilen kültür metodu oldukça önemli olarak ortaya çıkmaktadır. Dışkı örneklerinden *Campylobacter* izolasyonu için seçilen besiyerleri temel olarak 2 grup şeklinde incelenecek olup; ilk grup kan içermeyen besiyerleridir. Bunlar bizim de çalışmamız da kullandığımız Modifiye kömürlü sefoperazon deoksikolat agar (mCCDA) gibi şarkal içeren kömür bazlı selektif besiyeri (CSM) veya kömürlü sefoperazon deoksikolat agar (CCDA)

seçici besiyeleridir. Diğer grup ise; kan içeren selektif besiyeleri olup, başlıca Butzler, Skirrow veya Campy-CVA (sefoperazon, vankomsin, amfoterisin) olarak sıralanabilir. Ancak yapılan çalışmalar neticesinde; *Campylobacter* izolasyonunda bu 2 grup besiyelerinden birini tercih etmekten çok, kan içeren besiyerine ek olarak kömür içeren bir besiyerinin de kullanılmasının izolasyon ihtimalini %15 oranında artırabileceği gözlenmiştir⁷³. Bunlara ek olarak; daha önce bahsedilen selektif besiyelerinin kullanımına alternatif olarak sunulan başka bir protokol olan Cape Town protokolü, hem geleneksel yöntemlere kıyasla daha pratik olup, uygun maliyetli ve verimli bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır [66]. Ayrıca; başka bir çalışmada da dışkıdan filtrasyon yönteminin, *Campylobacter* izolasyonu için selektif (mCCDA) besiyerine benzer seviyede verimli olduğunu, bütün *Campylobacter* türlerini izole etmek için kullanılabilirliğini, yeni bulunan *Campylobacter* türlerinin izolasyonunu da arttırabileceği iddia edilmiştir¹²⁵.

Campylobacter türleri izolasyonunda yukarıda bahsedilen besiyeleri koşulları dışında, üremeleri için mikroaerofilik atmosfer ortamına ihtiyaç duydukları bilinmektedir. Önceki yıllarda bu koşullar ancak havası boşaltılmış kavanozların içine uygun gaz konsantrasyonları (%85 N₂, %10 CO₂, %5 O₂) doldurulması ya da bu 3 gazın sağlandığı inkübatörler aracılığı ile gerçekleştirilirken, günümüzde bu gaz karışımını içeren ve ticari olarak sağlanabilen gaz paketleri kullanılmaktadır. Örneğin; *C.jejuni* için 48 saat ve 42°C'de etüv önerilirken, bazı çalışmalarda bu sürenin yaklaşık olarak 24 saat kadar daha uzatılmasının izolasyon oranını yükseltebileceği gösterilmiştir^{77,78}. Buna ek olarak; bu koşullar termofilik türlerin üremesine izin verirken, sıklıkla antibiyotikli besiyelerinde inhibe olmuş ve 42°C'de üremeyen, ancak 37°C'de üreyebilen mikroaerofilik ortama ihtiyaç duyan *C.jejuni* ve *C.coli* türlerinin dışında kalan *Campylobacter* türlerinin üremesine izin vermediği de bilinmektedir³⁹.

Campylobacter türlerinin identifikasyonu için nalidiksik asit ve sefalotin duyarlılık testlerinin kullanılması oldukça önemli görünmektedir. Özellikle; *C.jejuni* ve *C.coli*'nin nalidiksik asite duyarlı olduğu bilinirken; bizim çalışmamızda, izolatların tamamı sefalotine dirençli bulunurken, *C.coli* olarak tanımlanan 6 suşun 2'si nalidiksik aside duyarlı, 4'ü dirençli bulunmuştur. *C.jejuni* olarak tanımlanan 36 suşun ise 6'sı nalidiksik aside duyarlı 30'u dirençli

tespit edilebilmiştir. Ülkemizde yapılan nalidiksik asit kullanılan çalışmalarla uyumlu olacak şekilde, *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda nalidiksik asit kullanılmaması önerilebilir. Bizim çalışmamızda da izole edilen *Campylobacter* suşlarından % 81,8'i nalidiksik asite dirençli olup, tamamı sefalotine direnç göstermiştir ve bu konvansiyonel duyarlılık testlerinin *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılmaması gerektiği ile sonuçlanmıştır.

Çalışmamızda *Campylobacter* pozitif dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesi sonucunda 41 (%93.2) örnekte eritrosit ve/veya lökosit görülürken 3'ünde (%6.8) görülmemiş olup *Campylobacter* gastroenteriti açısından dışkı örneklerinde eritrosit ve/veya lökosit görülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). *Campylobacter* enfeksiyonlarında; pozitif kültürlerde eritrosit ve lökosit bulunduğu ve bu oranların da %25 ile %80 arasında değiştiği gözlenmiştir. Dolayısıyla, sadece lökosit yoğunluğuna bakılarak bakteriyel enfeksiyon olarak nitelendirilse de, dışkı örneklerinde *Campylobacter* enfeksiyon pozitif olanlarda lökosit görülmeyenlerin de olması, lökosit bulunmamasının tanıyı ekarte etmediğini göstermiştir⁷⁷.

Campylobacter türlerine bağlı gastroenteritler çoğunlukla hafif kendini sınırlayan bir ishalden; yüksek ateş, halsizlik ve kırgınlığın da görüldüğü ciddi fulminan enterokolit şeklinde seyredebilir. Bu enfeksiyon ardından hepatit, nefrit, bakteriyemi, miyokardit gibi bağırsak dışı olgular da gözlenmiştir⁷⁴. Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalar olmak üzere kronik hastalığa sahip kişiler, çok yaşlı ya da çok küçük hastalar ile birlikte ishal süresi uzamış ağır seyreden vakalarda antibiyotik kullanılması önerilmektedir⁷⁵. Ancak; izole edilmiş *Campylobacter* türleri için antibiyogram yapılması da özellikle yukarıda bahsedilen olgularda antimikrobiyal direnç sorunu yaşanabileceğinden göz önünde bulundurulmalıdır.

Campylobacter türlerinin birçoğu β laktam grubu antimikrobijale karşı direnç gösterdiği bilinmektedir. Dolayısıyla; toksisitesinin görece az olması, iyi etkinliğe sahip olması, maliyetinin düşük olması ile birlikte fekal ve oral florayı baskılamaması neticesinde eritromisin tedavisi çoğunlukla önerilmektedir⁶⁹. Her ne kadar bazı Afrika ve Asya ülkeleri bireylerinde eritromisin direncine rastlansa da, bu oranın diğer ülkelerde %1-18 seviyesine düştüğü kaydedilmiştir⁷⁹. Bizim çalışmamızda ise; eritromisin direnci yalnızca 4 izolatta (% 9,09) görülmüş olup,

bu izolatların da 3'ü *C.coli*, 1'i *C.jejuni* olarak tanımlandı. Bizim sonucumuza oldukça yakın olan ülkemizde yürütülen başka bir çalışmada, izole edilen *Campylobacter* suşlarından %8'inde eritromisin direnci fark edilmiştir [80]. Yine ülkemizde gerçekleştirilen başka bir *Campylobacter* türü çalışmasında da bu direncin %5 oranında olduğu kaydedilmiştir⁸¹. Ancak; ülkemizde yürütülen başka bir *Campylobacter* araştırmasında ise izole edilen suşlardan hiç birinde eritromisin direncine rastlanamamıştır⁸².

Eritromisinin yanında, kinolon grubu antibiyotikler de günümüzde akut gastroenterit tedavisinde verilmektedir⁸³. Yalnız, kinolanların *Campylobacter* enfeksiyonlarında kullanımından bu yana bu grup antibiyotiklere karşı artan oranda direnç kaydedilmiştir⁸⁴. Bazı çalışmalar, *Campylobacter* türlerinde kinolon direncini yaklaşık olarak %50 olduğunu iddia etmişlerdir^{84,85}. Bizim çalışmamızda ise kinolon grubu antibiyotiklerinden biri olan siprofloksasine karşı, tüm izolatlar dirençli bulunmuştur. Ülkemizde daha önceki yıllarda yapılan *Campylobacter* türlerine karşı siprofloksasin direnci değişen oranlarda olmakla birlikte; bu oranının %8 ile %69 arasında değiştiği fark edilmiştir^{80,86}. Bizde siprofloksasin direnci %100 kaydedilmekle birlikte, daha yüksek sayıda suş miktarı ile çalışarak bu oran daha önceki kaydedilen oranlara yaklaşması olası görünmektedir.

Tetrasiklin grubu antibiyotikler ise siprofloksasine benzer şekilde, özellikle çiftlik hayvanlarının büyümesi sırasında kullanılan bir antibiyotik grubu olup, geniş spektrumlu ve ucuz olması nedeniyle de enfeksiyonlarda da kullanılmaktadır. Ancak; son yıllarda bu grup antibiyotiklere karşı da *Campylobacter* türlerinde direnç gerçekleştiği kaydedilmiştir. Bizim çalışmamızda da; Tetrasiklin direnci 43 izolatta (% 97,7) saptanırken, sadece 1 adet *C.jejuni* izolatu tetrasikline duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bizim bulgumuzun aksine; ülkemizde *Campylobacter* türlerinde antibiyotik dirençlerinin incelendiği bir çalışmada; izole edilen hiçbir suшта tetrasiklin direncine rastlanmadığı kaydedilmiştir. Diğer yandan; 3 yıllık veri toplamayı içeren kapsamlı ve Kanada'da yürütülen bir çalışmada; izole edilen *C.jejuni* suşlarından %49,8'inde tetrasiklin direncine rastlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada; bizim çalışmamızda eritromisin direnci oranına yakın bir şekilde hiç bir suшта eritromisin direncine rastlanmamıştır⁸⁷. *Campylobacter* türlerinde tetrasiklin direncinin incelendiği başka bir çalışmada ise; izole edilen *C.coli* suşlarından %67'si, *C.jejuni*

suşlarından da %18'inde tetrasiklin direncine rastlanmıştır⁸⁸. Daha önce de bahsedildiği gibi; tetrasiklin direncinden plazmid tarafından kodlanan *tet(O)* geni sorumludur¹¹⁹. *Tet(O)* bir ribozomal koruma (protection) proteini olup, tetrasiklinin ribozom üzerindeki birincil bağlanma bölgesine bağlanarak direnç oluşturur¹²⁰. *C.jejuni*'de tetrasiklin direnci oluşturan bu plazmidin (Tc') birçok araştırmacı tarafından sekans analizi gerçekleştirildi ve oldukça korunmuş bir dizilime sahip olduğu fark edildi. Öyle ki; 1970'lerde izole edilen plazmidin, 2000'lerde izole edilen plazmidten görsel olarak hiç bir farkı bulunmamaktaydı¹²¹. Bizim çalışmamızda baktığımız virülans genlerine ek olarak; *C.jejuni*'de kanamisin direnci varlığı sıklıkla *aphA-3* geni ile ilişkilendirilmiş olup, 40'tan 130 kb'lik büyük plazmidlerde tespit edilmiştir¹²².

Antimikrobilyallere dirençli gıda kaynaklı *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu, bu tür kaynaklı enfeksiyonların tedavisi ile ilgili endişeleri arttırmış olup, antimikrobilyollara duyarlı türlerden kaynaklı enfeksiyonlara kıyasla hastalıkların daha ağır seyretmesine neden olmaktadır⁸⁹. *Campylobacter* türlerinin antimikrobiyal duyarlılıklarının incelendiği bir çalışmada; izole edilen 378 suşta; kloramfenikol, siprofloksasin, doksisisiklin, eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençleri incelenmiştir. Suşların %82'sinde tetrasiklin direncine rastlanırken, ikincil olarak doksisisikline karşı %77'si dirençli bulunurken, bunu %54 ile eritromisin direnci takip etmiştir. Bilindiği üzere; bu türlerde antimikrobiyal direnç hem organizmanın türüne (*C.jejuni*, *C.coli*, vb.) ve hangi kaynaktan izole edildiğine bağlı olarak oldukça değişmektedir. Ancak bu türlerde fluorokinolonlara ve makrolidlere karşı olan direncin, büyük oranda DNA giraz ve 23S rRNA'yı kodlayan genlerde oluşan mutasyondan kaynaklandığı bildirilmiştir⁹⁰. Siprofloksasin direnci ise, DNA giraz enzimindeki A alt birimini kodlayan *gyrA* geninde mutasyon olup olmamasına bağlı olup, bu gende Thr-86, Asp-90 veya Ala-70 bölgelerinde tek nokta mutasyonları florokinolon direncinden sorumludur¹²³.

Campylobacter türlerinin antimikrobiyal duyarlılıklarının incelendiği çalışmada; 98 siprofloksasine dirençli *Campylobacter* izolattan elde edilen *gyrA* genleri ile 44 eritromisine dirençli ve 15 eritromisine duyarlı izolattan elde edilen 23S rRNA geninin DNA sekans analizinde, *C.jejuni* izolatlarının *gyrA*

genlerinde, 8 tanesi sessiz (silent) mutasyon olmak üzere 14 adet nokta mutasyonu olduğu gözlenmiştir. Siprofloksasin dirençli *C.coli* izolatlarından elde edilen *gyrA* genlerinde ise 6 nokta mutasyonu fark edilmiştir. Eritromisine dirençli *Campylobacter* izolatlarında ise, 23S rRNA geninde A-2230-G bölgesinde mutasyon olduğu kaydedilmiştir⁹¹. Bizim çalışmamızda da in-house PZR yöntemi sonucunda elde edilen verilere göre; izole edilen *Campylobacter* suşlarından 40'nda (% 90,9) 23S rRNA direnç genine rastlanırken, 21'inde (% 47,7) *gyrA* geni olduğu kaydedildi.

Daha önce de bahsedildiği gibi kinolon direnci özellikle *C.jejuni* türünde olmak üzere oldukça yaygın olup, bu dirençten kinolon direnç belirleyici bölgesinde (Quinolone resistance determining region-QRDR) yer alan *gyrA* geninde ortaya çıkan mutasyon sorumludur^{95,96}. Bu bölgenin yanı sıra; topoizomerez IV'ü kodlayan *parC* geninde meydana gelen mutasyonun da kinolon direnci oluşturabildiği gösterilmiştir⁹⁷.

Campylobacter türlerinde en önemli makrolid direnç mekanizması, ribozomal bağlanma bölgelerinde meydana gelen modifikasyon olarak ifade edilmektedir. Özellikle, 23S rRNA geninin 2058 ve 2059 (*Escherichia coli* numaralandırılması) pozisyonlarından mutasyona uğradığı, önceki yıllarda *Campylobacter* makrolid direnci çalışılan çalışmalarda gösterilmiştir⁹⁸. *Campylobacter* türlerinde 23S rRNA genininden 3 kopya olduğu bilinmektedir¹⁰⁰. Diğer bakteri türlerinde de makrolid direnci oluşturan, 50 S ribozomal alt biriminin L4 ve L22 proteinlerinde meydana gelen birkaç modifikasyonun aynı zamanda *Campylobacter* türlerinde de makrolid direnci oluşturduğu gösterilmiştir⁹⁷.

Makrolidler temelde protein sentezini inhibe ederek, peptidyl-tRNA'nın ribozomdan prematür ayrılmasına neden olur¹⁰¹. Önceki yıllarda yapılan çalışmalar; *C.jejuni* and *C.coli* türlerindeki makrolid direncinin, 23S rRNA geninde 5. domainde (domain V) ve 2074 ile 2075 (*Escherichia coli*'de 2058 ve 2059. pozisyonlara denk geliyor) meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir^{99,102}. Sonradan yapılan bazı çalışmalarda ise; direnç (resistance) nodulation cell division (RND) sızma pompa ailesinin de *C.jejuni* ve *C.coli* intirinsik veya edinilmiş makrolid direncinde aktif rol oynadığı gösterilmiştir¹⁰³. Bunlara ek olarak; horizontal olarak transfer edilebilir metilazı

kodlayan ve *Campylobacter* türlerinde tanımlanan *erm(B)* geninin de, 23S *rRNA*'da tek bir adenini dimetilleyerek bakteri ribozumundaki 50S alt biriminin bağlanmasına engel olduğu fark edilmiştir¹⁰⁴. Ayrıca; *cmeABC*'nin de, *C.jejuni* ve *C.coli* türlerinde önemli bir sızma (efflux) sisteminin parçası olduğunu gösteren çalışmalar mevcut olup, *cmeB*'nin inaktivasyonu ise birçok antibiyotik çeşidinin MİK'lerini azaltmakta olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan; *cmeABC* promoterin (CmeR-Box) düzenleyici bölgesinde meydana gelen mutasyonların, *Campylobacter* türlerinin florokinolon direncinde de rolü olduğu belirtilmiştir¹⁰⁵.

Virülans genleri daha önce de bahsedildiği gibi, *Campylobacter* türlerinin virülanslarında oldukça belirleyici olup, bakteriyel gastroenteritlerin en önemli sebebi olan barsak epitel hücrelerine adezyon ve invazyonlarından sorumludur¹⁰⁶. *Campylobacter* dünya çapında, gastroenteritlerin en sık bakteriyel sebeplerinden biri olmasına rağmen, bu enteropatojenin virülans faktörleri hakkında hâlâ oldukça az bilgi sahibi olunabilmiştir. Bu virülans genlerinden *cadF* geni; insandan ve aynı zamanda tavuk etinden izole edilen *Campylobacter* türlerinde *cadF* geninin varlığı önceki çalışmalar tarafından da raporlanmıştır^{110,115}. Bu genin ürünü, invazyon sürecini ve hücrede mikrofilaman organizasyonunu etkileyen adezin ve fibronektin-bağlayıcı proteindir¹¹⁶. Örneğin; *cadF* geni bulunmayan türlerde tavuk barsağına kolonizasyonun gerçekleşmediği gösterilmiştir¹¹⁷. Dolayısıyla; *cadF* geninin insan enfeksiyonu patogeneğinde de benzer bir role sahip olduğu düşünülmektedir¹⁰⁷.

Bunlardan bugüne kadar bulunanları; *flaA* geninin de daha önce *cadF* geni için bahsedildiğine benzer şekilde, alıcı barsağındaki adezyon ve kolonizasyonundan sorumlu olduğu fark edilmiştir¹¹⁰. *ceuE* geninin ise, siderofor enterochelin sistemi için önemli bir bağlanma proteinini kodlarken, CDT (Cytotoxic Distending Toxin) ise hücre membranına holotoksinin bağlanmasından sorumlu olduğu ifade edilmiştir^{111,112}. CDT intoksikasyonu, konak hücrenin sitoplazmasında karakteristik bir genişlemeye, DNA içeriğinde bir artışa ve hücre siklusu düzenlenmesinde önemli bir protein olan Cdc2'nin birikmesine neden olmaktadır. Sitotoksinin sitotoksik etkisi bilindiği üzere, nükleer DNA'ya zarar verip hücre siklusunu G2 veya M fazında inhibe etmektedir¹¹³. Ayrıca; CDT, barsak epitel hücrelerinden proinflamatuvar sitokin

olan IL-8'in salınmasına neden olduğu ve dolayısıyla insanda inflamatuvar sürecin oluşmasında bir rolü olduğu da bilinmektedir²⁴.

Bunlara ek olarak; 2000 yılında gerçekleştirilen önemli bir çalışmada, *Campylobacter* türünde pVir diye adlandırılan ve birçok bakteriyel patojenlerin virülansından sorumlu tip IV sekresyon sisteminin (T4SS) komponentlerini içeren bir plazmid farkedildi. Bu plazmidin, kültür barsak epitel hücrelerindeki in vitro adezyon ve invazyon için önemli olduğunu gözlenmiştir¹⁰⁸. Ayrıca; *Campylobacter* kaynaklı enteritlerin şiddeti ile potansiyel olarak ilişkili invazyon-ilişkili marker (*iam*) da invaziv *Campylobacter* türlerinde büyük oranda tespit edilmiştir¹¹⁸. İshal çocuklardan alınan *Campylobacter* türlerin %85'inde *iam* sekansı tespit edilebilirken, asemptomatik hastaların sadece %20'sinde fark edilebilmiştir. Bu nedenle, bu bölgenin invaziv *Campylobacter* türlerinin tanısında önemli bir marker olduğu iddia edilmiştir¹⁰⁷.

Bizim çalışmamızda da *Campylobacter* virülans faktörlerinden *cadF* ve *cdtABC* genlerinin varlığı incelendi, 44 izolatın 34'ünde (% 77,3) *cadF* geni bulunurken, 24'ünde (% 54,5) *cdtABC* genine rastlandı. *cadF* geni, invazyon sırasında bir yapışkan gibi davranan dış membran proteinin kodlanmasından sorumludur¹⁰⁷. 2015 yılında *C.jejuni* ve *C.coli* izolatlarında virülans (*cadF*, *flaA* ve *CeuE*) ve CDT toksin kodlayan genlerinin (*cdtA*, *cdtB* ve *cdtC*) prevalansının incelendiği bir çalışmada; izolatların %80'inde *cadF* geni bulunurken; %35'inde de *cdtABC* genleri olduğu kaydedilmiştir. Diğer yandan; izolatların tamamı amikacin ve tobramycin antibiyotiklerine duyarlıyken; gentamisin, nalidiksik asit, siprofloksasin, norfloksasin, spiramisin ve streptomisine ise değişen oranlarda (% 100-50) duyarlılık göstermişlerdir. Ancak; izolatların tamamı sefolaksa direnç göstermiş olup, amoksisiline %71,4, trimetoprim sülfametoksazola % 85,7, ampisiline % 71,4 direnç gözlenmiştir. *C.coli* izolatlarının tamamı sefalotine karşı dirençli bulunmuş olup, tetrasikline de %83,3 direnç kaydedilmiştir¹⁰⁹. Polonya'da yürütülen 102 *C.jejuni* izolatı ile gerçekleştirilen çalışmada; *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* ve *cdtABC* genlerinin bulunma oranları sırasıyla % 98, % 96, % 92 ve % 88 olarak bulunmuştur¹¹⁴. Bizim sonuçlarımıza göre ise; sadece 36 *C.jejuni* izolatın içinden 24'ünde (%66,7) *cdtABC* genine rastlanmıştır. 2005 yılında 115 *C.jejuni* ile 57 *C.coli* izolatı gerçekleştirilen başka bir çalışmada; izolatların %100'ünde *cadF* geni bulundu. Ayrıca; tüm *C.jejuni* izolatlarında 3 *cdt* geni de bulunurken, insandan izole edilen *C.coli* suşlarında %5,6; tavuktan izole

edilen *C.coli* suşlarında ise %87,2 oranından tespit edilebilmiştir. İlgili çalışmada; insan ve tavuk izolatlarındaki genetik markerların dağılımı arasındaki bu farklılık, çocuklarda bazı *Campylobacter* enfeksiyonlarının kontamine olmuş tavuk eti dışında başka kaynaklardan da alınabileceği iddia edilmiştir¹⁰⁷. Ülkemizde gerçekleştirilen ve farklı *Campylobacter* türlerinin virülans genleri, antibiyotik duyarlılıkları ve moleküler karakterizasyonu açısından incelen başka bir çalışmada, izole edilen 150 örnekten 17'si (% 11.3) *Campylobacter* spp. olarak tanımlanmıştır. Gerçekleştirilen disk difüzyon testi neticesinde, *C.jejuni* izolatlarının bütünü siprofloksasine dirençli bulunmuş olup, enrofloksasine direnç %87.5, amoksisilin-klavulanik asite direnç %25, neomisine direnç ise %25 ve eritromisine direnç %12.5 şeklinde belirlenmiştir. İzole edilen *C.coli* örneklerinde ise antibiyotiklere karşı direnç saptanmamıştır. Virülans genleri açısından ise *virB11*, izolatların hiçbirinde tespit edilemezken, *iam* geni yalnızca bir izolatta tespit edilebilmiştir. *flaA* geni *C.jejuni* izolatlarının 6'sında tespit edilmiş olup, *cdtC* geni ise 7'ser *C.jejuni* ve *C.fetus* izolatında tespit edilebilmiştir. Diğer yandan; *cdtA*, *cdtB*, *ceuE* ve *cadF* genleri ise *C.jejuni* örneklerinin bütününde pozitif olarak belirlenmiştir¹³⁰. Tablo 5.1.'de önceki yıllarda *Campylobacter* türlerinde virülans genleri, Tablo 5.2'de ise direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalardan bazıları özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Önceki yıllarda *Campylobacter* türlerinde virülans ve direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalar

<u>Araştırmacı</u>	<u>Yıl</u>	<u>Virülans Genleri ve Kullanılan Yöntem</u>	<u>Çalışmanın Yapıldığı Yer</u>
Rozynek ve ark.	2005	<i>iam</i> (%83,3 <i>C.coli</i> , %1,6 <i>C.jejuni</i>), <i>cadF</i> (%100), <i>cdtA</i> (%61 <i>C.jejuni</i> , %1 <i>C.coli</i>), <i>cdtB</i> (%60 <i>C.jejuni</i> , %15 <i>C.coli</i>) ve <i>cdtC</i> (%61 <i>C.jejuni</i> , %1 <i>C.coli</i>) genleri mPZR yöntemi ile	Polonya ¹⁰⁷
Wieczorek ve ark.	2012	<i>flaA</i> (%100), <i>cadF</i> (%100), <i>iam</i> (%88,8 <i>C.coli</i> , %53,8 <i>C.jejuni</i>), <i>virB11</i> (%4,2 <i>C.coli</i> , % 6,1 <i>C.jejuni</i>), <i>cdtA</i> (% 97,7 <i>C.jejuni</i> , % 90,5 <i>C.coli</i>), <i>cdtB</i> (%91 <i>C.coli</i> , %93,2 <i>C.jejuni</i>), <i>cdtC</i> (%66,7 <i>C.coli</i> , %96,2 <i>C.jejuni</i>) PZR yöntemi ile	Polonya ¹³²
Koolman ve ark.	2015	<i>flaA</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>), <i>flab</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>), <i>flhA</i> ve <i>flhB</i> (%75 <i>C.jejuni</i> , %50 <i>C.coli</i>), <i>flgB</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>), <i>cadF</i> (%100 <i>C.jejuni</i> , % 50 <i>C.coli</i>), <i>iamA</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>), <i>cdtA</i> (%100 <i>C.jejuni</i> , %50 <i>C.coli</i>), <i>cdtB</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>), <i>cdtC</i> (%100 <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i>) PZR yöntemi ile	İrlanda ¹³³
Lapierre ve ark.	2016	<i>cadF</i> (%93), <i>flaA</i> (%68), <i>cdtA</i> (%60), <i>cdtB</i> (%85), <i>cdtC</i> (%85), <i>wlaN</i> (%18) PZR yöntemi ile	Şili ¹³⁴
Hizlisoy ve ark.	2020	<i>iam</i> (%5,9), <i>cadF</i> (%64,7), <i>cdtA</i> (%76,5), <i>flaA</i> (%35,3), <i>ceuE</i> (%94,1), <i>cdtC</i> (%88,2), <i>cdtB</i> (%94,2), <i>virB11</i> (-) genleri mPZR yöntemi ile	Kayseri/Türkiye ¹³⁰

Tablo 5.2. Önceki yıllarda *Campylobacter* türlerinde direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalar

<u>Araştırmacı</u>	<u>YIL</u>	<u>DİRENÇ GENLERİ VE KULLANILAN YÖNTEM</u>	<u>ÇALIŞMANIN YAPILDIĞI YER</u>
Ge ve ark.	2003	<i>gyrA</i> (%61,6), 23S <i>rRNA</i> (%37,1)	Amerika ⁹¹
Keller ve ark.	2006	<i>gyrA</i> (siprofloksasine dirençli tüm izolatlarda nokta mutasyonu), <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> ve 23S <i>rRNA</i> (eritromisin ve siprofloksasine duyarlı gruplarda nokta mutasyonu saptanmamıştır) PZR yöntemi ile	İsviçre ¹³⁵
Pham ve ark.	2016	<i>gyrA</i> (% 82,1 <i>C.jejuni</i>), 23S <i>rRNA</i> (% 12,5) PZR yöntemi ile	Tayland ve Japonya ¹³⁶
Li ve ark.	2016	<i>gyrA</i> (siprofloksasine dirençli tüm izolatlarda nokta mutasyonu), <i>tet(O)</i> (doksisisikline dirençli tüm izolatlarda), 23S <i>rRNA</i> (azitromisin dirençli izolatların %75,7), <i>erm(B)</i> (azitromisin dirençli izolatların %20,4'ü) PZR Yöntemi ile	Çin ¹³⁷

Çalışmamızda ayrıca, örnekler toplandığı sırada eş zamanlı olarak *Salmonella* spp. ve *Shigella* spp. örneklerine de bakıldı. Toplanan 702 hasta örneğinden, sadece 1'inde *Salmonella* spp. saptanabildi. Bu bulgunun ışığında, bakteriyoloji laboratuvarlarında imkânlar dâhilinde *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Campylobacter* spp. birlikte bakılması, imkanlar yetersiz ise *Campylobacter* spp. ilk etapta bakılmasının daha doğru bir tercih olabileceği söylenebilir. Ülkemizde Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında 2008-2011 yılları arasında 4 yıl boyunca izole edilen *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* suşları çalışılmıştır. 4162 dışkı örneğinden 143'ü (% 3,4) *Salmonella* spp., 52'si (% 1,2) *Campylobacter* spp., 18'i (% 0,4) ise *Shigella* spp. olarak belirlenmiştir. İlgili çalışmada, bu 4 yıllık süre içinde *Campylobacter* spp. besinle bulaşan patojenler içinde 2. sırayı alarak oldukça yaygın bir zoonotik etken olduğu ortaya çıkmıştır¹³¹.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi'ne gelen ve akut gastroenterit ön tanısıyla Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinden, hastanemizde rutin kültürü yapılmayan *Campylobacter* türlerinin sıklığı belirlenmiştir. *Campylobacter* spp. kaynaklı ishal olabileceği düşünülen 401 hasta örneğinden, 44 (%10.9) örnekten *Campylobacter* spp. izole edildi. Bu izolatlar uygulanan PZR yöntemi neticesinde, örneklerin 36'sı (%81,8) *C.jejuni*, 6'sı (%13,6) *C.coli* ve diğer 2'si (%4,6) *Campylobacter* spp. (*C.jejuni* ve *C.coli* dışı) olarak tanımlandı. *Campylobacter* izolatlarının konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonunda kullanılan nalidiksik asit ve sefalotin testi değerlendirilerek, ; izolatların tamamı sefalotine dirençli bulundu. *C.jejuni* olarak tanımlanan 36 suştan 30'u ise nalidik aside dirençli olarak tespit edildi. Test edilen antibiyotikler içinde; eritromisin en duyarlı (%90.9), siprofloksasin ise en dirençli (%100) olarak bulunurken, tetrasiklin direnci ise (%97.7) olarak hesaplandı. Çalışmada ayrıca; antimikrobiyal direnç ile ilişkili gen bölgeleri (*gyrA*, *23S rRNA*) ve virülans faktörleriyle ilişkilendirilmiş gen bölgeleri (*cadF*, *cdtABC*) araştırıldı. Bunun sonucunda; 44 *Campylobacter* izolattan 40'ında (% 90,9) *23S rRNA* bulunurken, 21 izolatta (% 47,7) da *gyrA* genleri tespit edildi. Diğer yandan; 44 izolatin 34'ünde (% 77,3) *cadF* geni bulunurken, 24'ünde (% 54,5) *cdtABC* genine rastlandı. Bu çalışmada bulunan sonuçların; hastanemizde *Campylobacter* enfeksiyonları tanısının konulmasına ve doğru antimikrobiyal ajan seçiminde klinisyenlerin yönlendirmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir. Buna ek olarak; *Campylobacter* spp. tanımlama yöntemlerinin laboratuvarımıza yerleştirilmesi de planlanmaktadır. Özellikle imkanlar dahilinde, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Campylobacter* spp. birlikte bakılmasının daha doğru bir tercih olabileceği önerilebilir. Ayrıca, daha çok laboratuvar merkezinin ve sonuçlarının dahil edildiği ve daha çok virülans ve direnç genlerinin değerlendirildiği kapsamlı çalışmaların yapılması da önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. *Campylobacter jejuni/coli* Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. (2014). Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Ankara.
2. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2014). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal*, 12(2), 3547, 312.
3. Silva J, Leite D, Fernandes M, et al. *Campylobacter* Spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Frontiers in Microbiology* 2011; 2:200–200.
4. Kirk MD, Pires SM, Black RE, et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med* 2015; 12(12):e1001921.
5. Lübbert C. Antimicrobial therapy of acute diarrhoea: a clinical review. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2016; 14(2):193-206.
6. Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(5):1109-17.
7. Ruiz J, Pons MJ, Gomes C. Transferable mechanisms of quinolone resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40(3):196-203.
8. Gomesi C, Martínez-Puchol S, Palma N, et al. Macrolide resistance mechanisms in Enterobacteriaceae: Focus on azithromycin. *Crit Rev Microbiol* 2017; 43(1):1-30.
9. Bolton DJ. *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol* 2015; 48:99-108.

10. Talukder KA, Aslam M, Islam Z, et al. Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. *J Clin Microbiol* 2008; 46(4):1485-8.
11. Rollins DM, Colwell RR. Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. *Appl Environ Microbiol* 1986; 52(3):531–538.
12. Erdem B, Ustaçelebi Ş. *Campylobacter ve Helicobacter*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi, 1999:531-540.
13. Smibert RM. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2th Ed. USA: Springer, 2005:145–1165.
14. Taylor DE, Eaton M, Yan W, et al. Genome maps of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of Bacteriology* 1992; 174(7): 2332–2337.
15. Schmidt-Ott R, Pohl S, Burghard S, et al. Identification and characterization of a major subgroup of conjugative *Campylobacter jejuni* plasmids. *J. Infect* 2005; 50(1):12-21.
16. Hansen VM, Rosenquist H, Baggesen DL, et al. Characterization of *Campylobacter* phages including analysis of host range by selected *Campylobacter* Penner serotypes. *BMC Microbiology* 2007; 7(1):90–90.
17. Foster G, Holmes B, Steigerwalt AG, et al. *Campylobacter insulaenigrae* sp. nov., isolated from marine mammals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2004; 54(6):2369–2373.
18. On SLW. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Journal of Applied Microbiology* 2001; 90(30).
19. Poly F, Guerry P. Pathogenesis of *Campylobacter*. *Current Opinion in Gastroenterology* 2008; 24(1):27–31.
20. Kopecko DJ, Hu L, Zaal KJM. *Campylobacter jejuni* – microtubule-dependent invasion. *Trends in Microbiology* 2001; 9(8):389–396.

21. Konkel ME, Klena JD, Rivera-Amill V, et al. Secretion of Virulence Proteins from *Campylobacter jejuni* Is Dependent on a Functional Flagellar Export Apparatus. *Journal of Bacteriology* 2004; 186(11):3296–3303.
22. Snelling W, Matsuda M, Moore J, et al. Under the microscope - *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology* 2005; 41(4):297–302.
23. Baqar S, Applebee LA, Gilliland TC, et al. Immunogenicity and Protective Efficacy of Recombinant *Campylobacter jejuni* Flagellum-Secreted Proteins in Mice. *Infection and Immunity* 2008; 76(7):3170–3175.
24. Hickey TE, McVeigh AL, Scott DA, et al. *Campylobacter jejuni* Cytolethal Distending Toxin Mediates Release of Interleukin-8 from Intestinal Epithelial Cells. *Infection and Immunity* 2000; 68(12):6535–6541.
25. Wassenaar TM. Toxin production by *Campylobacter* spp. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; 10(3):466–476.
26. Vliet AHM, Ketley JM. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. *Web Science* 2001; 90(30).
27. Oldfield NJ, Moran AP, Millar LA, et al. Characterization of the *Campylobacter jejuni* Heptosyltransferase II Gene, waaF, Provides Genetic Evidence that Extracellular Polysaccharide Is Lipid A Core Independent. *Journal of Bacteriology* 2002; 184(8):2100–2107.
28. Bronzwaer S. Harmonised monitoring of antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Campylobacter* isolates from food animals in the European Union. *Clinical Microbiology and Infection* 2008; 14(6):522–533.
29. Takkinen J, Ammon A, Robstad O, et al. European Survey on *Campylobacter* surveillance and diagnosis 2001. *Eurosurveillance* 2003; 8(11):207–213.
30. Nachamkin I. Chronic effects of *Campylobacter* infection. *Microbes and Infection* 2002; 4(4):399–403.
31. Kanan B, Akşit F. Akut Gastroenteritli Olgularda *Campylobacter* Sıklığının Araştırılması. *Turkish Journal of Infection* 2003; 17(1):11-14.

32. Friedman CR, Neimann J, Wegener H, et al. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. *Campylobacter* 2000; 2(6):121-138.
33. Facciola A, Riso R, Avventuroso E, et al. *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J Prev Med Hyg* 2017; 58(2): E79-E92.
34. Sivadon-Tardy V, Orlikowski D, Porcher R, et al. Detection of *Campylobacter Jejuni* by Culture and Real-Time PCR in a French Cohort of Patients with Guillain-Barré Syndrome. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48(6):2278–2281.
35. Halpin AL, Gu W, Wise ME, et al. Post-*Campylobacter* Guillain Barré Syndrome in the USA: Secondary Analysis of Surveillance Data Collected during the 2009–2010 Novel Influenza A (H1N1) Vaccination Campaign. *Epidemiology and Infection* 2018; 146(13):1740–1745.
36. Hannu T, Inman R, Granfors K, et al. Reactive arthritis or post-infectious arthritis? *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology* 2006; 20(3):419–433.
37. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47(6):804–811.
38. Jerris RC, Fields PI, Nicholson MA. *Fecal culture for Campylobacter and related organisms*. In: Garcia LS, Isenberg HD. Eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed., Washington D.C: ASM Press, 2000:3821-38216.
39. Fitzgerald C, Nachamkin I, Murray P. *Campylobacter and Arcobacter*, *Manual of Clinical Microbiology* ASM Press, 9th Ed, 2007:933-946.
40. Koneman EW, Winn WC, Allen SD, et al. Schreckenberger PC. ve Woods GL. *Campylobacter*. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Lippincott Williams &Wilkins, Sixth Ed., 2006:393-403.

41. Karmali MA, Simor AE, Roscoe M, et al. Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. *Journal of Clinical Microbiology* 1986; 23(3):456–459.
42. Engberg J, On SLW, Harrington CS, et al. Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and *Sutterella* spp. in Human Fecal Samples as Estimated by a Reevaluation of Isolation Methods for *Campylobacters*. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(1):286–291.
43. Morris GK, Sherbeen MR, Patton CM, et al. Comparison of four hippurate hydrolysis methods for identification of thermophilic *Campylobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology* 1985; 22(5):714–718.
44. Granato PA, Chen L, Holiday I, et al. Comparison of Premier CAMPY Enzyme Immunoassay (EIA), ProSpecT *Campylobacter* EIA, and ImmunoCard STAT! CAMPY Tests with Culture for Laboratory Diagnosis of *Campylobacter* Enteric Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48(11):4022–4027.
45. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, et al. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2015; 28(3):687–720.
46. Kärenlampi RI, Tolvanen TP, Hänninen ML. Phylogenetic Analysis and PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Identification of *Campylobacter* Species Based on Partial groEL Gene Sequences. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(12):5731–5738.
47. Amri AA, Senok AC, Ismaeel AY, et al. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. *Journal of Medical Microbiology* 2007; 56(10):1350–1355.
48. Ghunaim H, Behnke JM, Aigha I, et al. Analysis of resistance to antimicrobials and presence of virulence/stress response genes in *Campylobacter* isolates from patients with severe diarrhoea. *PLOS ONE* 2015; 10(3):e0119268.
49. Nachamkin I, Ung H, Li M. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8(12):1501–1503.

50. Hou FQ, Sun XT, Wang GQ. Clinical manifestations of *Campylobacter jejuni* infection in adolescents and adults, and change in antibiotic resistance of the pathogen over the past 16 years. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2012; 44(6):439–443.
51. Wieczorek K, Osek J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *BioMed Research International* 2013; 340605–340605.
52. Lin J, Michel LO, Zhang Q. CmeABC Functions as a Multidrug Efflux System in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; 46(7): 2124–2131.
53. Pumbwe L, Piddock LJV. Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. *Fems Microbiology Letters* 2002; 206(2):185–189.
54. Wilson IG, Moore JE. Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish. *Epidemiology and Infection* 1996; 116(2):147–153.
55. Schorr SD, Schmid D, Baumgartner A, et al. Risk Factors for *Campylobacter* Enteritis in Switzerland. *International Journal of Hygiene and Environmental Medicine* 1994; 196(4), 327–337.
56. Orr KE, Lightfoot NF, Sisson PR, et al. Direct Milk Excretion of *Campylobacter* *Jejuni* in a Dairy Cow Causing Cases of Human Enteritis. *Epidemiology and Infection* 1995; 114(1):15–24.
57. Bilgehan H. Besiyerleri Ayıraçlar ve Deneyler, Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 4. Basım, İzmir:Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, 2004:649-731.
58. El-Zamkan MA, Hameed KGA. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in raw milk and some dairy products. *Veterinary World* 2016; 9(10):147–1151.
59. Khoshbakht R, Tabatabaei M, Hosseinzadeh S, et al. Genetic Characterization Of *Campylobacter Jejuni* And *C. Coli* Isolated From Broilers Using FlaA Pcr-Restriction Fragment Length Polymorphism Method In Shiraz, Southern Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2015; 8(5):e18573.

60. Lluque A, Riveros M, Prada A, et al. Virulence and Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. from a Peruvian Pediatric Cohort. *Scientifica* 2017; 7848926–7848926.
61. Sajduda A, Brzostek A, Ppolawaska M, et al. Molecular Characterization of Rifampin- and Isoniazid-Resistant Mycobacterium Tuberculosis Strains Isolated in Poland. *Journal of Clinical Microbiology* 2012; 50(3):598–601.
62. Zankari E, Hasman H, Kaas RS, et al. Genotyping using whole-genome sequencing is a realistic alternative to surveillance based on phenotypic antimicrobial susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:771-777.
63. Zhao S, Tyson GH, Chen Y, et al. Whole-Genome Sequencing Analysis Accurately Predicts Antimicrobial Resistance Phenotypes in *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 2015; 2(2):459–466.
64. Alfredson DA, Korolik V. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 277: 123-132.
65. Wang Y, Huang WM, Taylor DE. Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:457-463.
66. 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, 2008:123-149.
67. Nielsen HL, Ejlersen T, Engber J, et al. High incidence of *Campylobacter concisus* in gastroenteritis in North Jutland, Denmark: a population-based study. *Clin Microbiol and Infect* 2013; 19(5):445-50.
68. Vandenberg O, Houf K, Douat N, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-*jejuni/coli campylobacters* and *arcobacters* from Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:908-913.

69. Blaser MJ, Allos BM, Mandell JE, et al. Bennet and R.Dolin (ed.). Principles and Practice of Infectious Diseases. İçinde *Campylobacter jejuni* and related species, Philadelphia:Elsevier Churchill Livingstone, 2005:2548-2557..
70. Avcu G, Bal ZS, Saz EU, et al. Prevalence of Bacterial Agents in Children with Acute Gastroenteritis in the Pediatric Emergency Department of Ege University School of Medicine. J Pediatr Inf 2016; 10:49-53.
71. Öngen B, Nazik H, Kaya I. Rutin Dışkı Kültürlerinde Üretilen *Campylobacter* Türleri ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları: 5 yıllık Sonuçların Değerlendirilmesi. Ankem Derg 2007; 21(1):37-41.
72. Klein EJ, Boster DR, Stapp JR, et al. Diarrhea Etiology in a Children's Hospital Emergency Department: A Prospective Cohort Study. Clin Infect Dis 2006; 43:807-813.
73. Fitzgerald C, Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. İçinde Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. (eds). Manual of Clinical Microbiology. 10th ed., ASM Press, Washington D.C, 2011; 885-899
74. Skirrow MB, Blaser MJ. Clinical aspects of *Campylobacter* infection, p. 69-88. In Nachamkin I and Blaser MJ. (ed.) *Campylobacter*, 2nd ed. ASM Pres, Washington, D.C, 2009.
75. Lindmark H, Harbom B, Thebo L, et al. Genetic Characterization and Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni* Isolated from Meats, Water, and Humans in Sweden. Journal of Clinical Microbiology 2004; 42(2):700–706.
76. Savaşan S, Çiftçi A, Diker S. Emergence of Quinolone Among chicken Isolates of *Campylobacter* in Turkey. Türk J Vet Anim Sci 2004; 28:391-7.
77. Fitzgerald C, Nachamkin I, Murray P. *Campylobacter* and *Arcobacter*, Manual of clinical Microbiology, 9th ed., Washington DC., ASM Press, 2007:933-46.
78. Endtz Hubert P, Ruijs Gijs JHM, Zwinderman Aeilko H, et al. Comparison of Six Media, Including a Semisolid Agar, for the Isolation of Various *Campylobacter* Species from Stool Specimens. Journal Of Clinical Microbiology 1991; 29(5):1007-1010.

79. Gallay A, Prouzet-Mauleon V, Kempf I, et al. *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, france. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(2):259-66.
80. Ateş-Yılmaz A, Tuğrul MH. Edirne'de ishal etkenleri arasında *Campylobacter* türlerinin ve antimikrobiklere karşı duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2005; 19(1):53-9.
81. Öztürk R, Midilli K, Okyay K, et al. Çocuk ve erişkin yaş grubu sürgün olgularında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* sıklığının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1994; 24:42-5.
82. Yıldırım MS, Fazlı ŞA. Kayseri ve yöresinde bakteriyolojik kültür için gönderilen dışkı örneklerinde *Campylobacter*'lerin izolasyonu ve identifikasyonu. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12:317-22.
83. Goodman LJ, Trenholme GM, Kaplan RL, et al. Empiric antimicrobial therapy of domestically acquired acute diarrhea in urban adults. *Arch Intern Med* 1990; 150(3):541-6.
84. Endtz HP, Mouton RP, Reyden T, et al. Biever M, Klingeren B. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* spp. isolated from human stools and poultry products. *Lancet* 1990; 335:787.
85. Sanches R, Fernandez-Baca V, Diaz MD, et al. Evolution of susceptibilities of *Campylobacter* spp. Toquinolones and macrolides. *Antimicrob Agents Chemother*; 38:1879-82.
86. Güney M. GATA eğitim Hastanesi'nde Akut Bakteriyel Gastroenterit etkenleri arasında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli'nin* yeri ve bunların antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı, Ankara, 2008.
87. Gibreel A, Tracz DM, Nonaka L, et al. Incidence of Antibiotic Resistance in *Campylobacter jejuni* Isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with Special Reference to tet(O)-Mediated Tetracycline Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004; 48(9):3442–3450.

88. Dasti JI, Gross U, Pohl S, et al. Role of the plasmid-encoded tet(O) gene in tetracycline-resistant clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of Medical Microbiology* 2007; 56(6):833–837.
89. Travers K, Barza M. Morbidity of infections caused by antimicrobial-resistant bacteria. *Clin. Infect. Dis* 2002; 34(3):S131–S134.
90. Engberg J, Aarestrup DE, Taylor P, et al. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C.coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis* 2001; 7:24-34.
91. Ge B, White DG, McDermott PF, et al. Antimicrobial-Resistant *Campylobacter* Species from Retail Raw Meats. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69(5):3005–3007.
92. CDC. (2014). Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): FoodNet Surveillance Report for 2014 (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC.
93. Suzuki H, Yamamoto S. *Campylobacter* Contamination in Retail Poultry Meats and By-Products in the World: A Literature Survey. *Journal of Veterinary Medical Science* 2009; 71(3):255–261.
94. Korsak D, Mackiw E, Rozynek E, et al. Prevalence of *Campylobacter* spp. in retail chicken, Turkey, pork, and beef meat in Poland between 2009 and 2013. *J. Food Prot* 2015; 78:1024–1028.
95. Iovine NM, Blaser MJ. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*. *Emerg. Infect. Dis* 2004; 10:1346.
96. Alfredson DA, Korolik V. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiology Letters* 2007; 277(2):123–132.
97. Lehtopolku M, Kotilainen P, Haanperä-Heikkinen M, et al. Ribosomal Mutations as the Main Cause of Macrolide Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2011; 55(12):5939–5941.

98. Corcoran DT, Quinn L, Cotter F, et al. An investigation of the molecular mechanisms contributing to high-level erythromycin resistance in *Campylobacter*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27:40–45.
99. Payot S. Relative contribution of target gene mutation and efflux to fluoroquinolone and erythromycin resistance, in French poultry and pig isolates of *Campylobacter coli*. *Int J Antimicrob* 2004; *Agents* 23:468–472.
100. Gibreel A, Taylor DE. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:243–255.
101. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:577–85.
102. Vacher S, Menard A, Bernard E, et al. Detection of mutations associated with macrolide resistance in thermophilic *Campylobacter* spp. by real-time PCR. *Microb Drug Resist* 2005; 11:40–7.
103. Mamelli L, Amoros JP, Pages JM, et al. A β -phenylalanine–arginine beta-naphthylamide sensitive multidrug efflux pump involved in intrinsic and acquired resistance of *Campylobacter* to macrolides. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22:237–41.
104. Qin S, Wang Y, Zhang Q, et al. Report of ribosomal RNA methylase gene *erm(B)* in multidrug-resistant *Campylobacter coli*. 2014; 69(4):964-968.
105. Cheng Y, Zhang W, Lu Q, et al. Point Deletion or Insertion in CmeR-Box, A2075G Substitution in 23S rRNA, and Presence of *erm(B)* Are Key Factors of Erythromycin Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolated From Central China. *Frontiers in Microbiology* 2020; 11:203.
106. Tracz DM, Keelan J, Ahmed-Bentley A, et al. pVir and bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* enteritis. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:838-843.
107. Rozynek E, Dzierzanowska-Fangrat K, Jozwiak P. Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *J Med Microbiol* 2005; 54:615-619.

108. Bacon DJ, Alm RA, Burr DH, et al. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infect. Immunity* 2000; 68:4384-4390.
109. El-Jakee J, Ata NS, Hakim AS, et al. Prevalence of Virulence Genes and Antimicrobial Resistance Patterns of *Campylobacter* Species Isolated from Chicken in Egypt. *Asian Journal of Poultry Science* 2015; 9(4):250-261, 2015
110. Konkel ME, Gray SA, Kim BJ, et al. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the cadF virulence gene and its product. *J Clin Microbiol* 1999; 37:510-517.
111. Gonzalez I, Grant KA, Richardson PT, et al. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the ceuE gene encoding a putative virulence determinant. *Journal of clinical Microbiology* 1997; 759–763.
112. Lara-Tejero M, Galan JE. *CdtA*, *CdtB*, and *CdtC* Form a Tripartite Complex That Is Required for Cytolethal Distending Toxin Activity. *Infection and Immunity* 2001; 69(7):4358–4365.
113. Whitehouse CA, Balbo PB, Pesci EC, et al. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infect. Immun* 1998; 66, 1934-1940.
114. Wardak S, Szych J. Prevalence of pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* isolated from humans in Poland between 2003-2005. 2006; 58(3):217-222.
115. Datta S, Niwa H, Itoh K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. *J Med Microbiol* 2003; 52:345–348.
116. Monteville MR, Yoon JE, Konkel ME. Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization. *Microbiology* 2003; 149:153–165.
117. Ziprin RL, Young CR, Stanker LH, et al. The absence of coecal colonization of chicks by a mutant of *Campylobacter jejuni* not expressing bacterial fibronectin-binding protein. *Avian Dis* 1999; 43:586–589.

118. Carvalho AC, Ruiz-Palacios GM, Ramos-Cervantes P, et al. Molecular characterisation of invasive and noninvasive *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1353–1359.
119. Taylor DE, Hiratsuka K, Ray H, et al. Characterization and expression of a cloned tetracycline resistance determinant from *Campylobacter jejuni* plasmid pUA466. *J. Bacteriol* 1987; 169:2984–2989.
120. Connell SR, Tracz DM, Nierhaus KH, et al. Ribosomal protection proteins and their mechanism of tetracycline resistance. *Antimicrob. Agents Chemother* 2003; 47:3675–3681.
121. Bachelor R, Pearson B, Friis L, et al. Abstr. 12th Int. Workshop *Campylobacter, Helicobacter, Related Organisms*, abstr. 2003; F-39, 48.
122. Trieber CA, Taylor DE. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter*. İçinde Nachamkin I, Blaser MJ. (ed.), *Campylobacter*, 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C, 2000.
123. Wang Y, Huang WM, Taylor D E. Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. *Antimicrob. Agents Chemother* 1993; 37: 457–463.
124. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Campylobacter and Helicobacter*. Medical Microbiology. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016: 280-286.
125. 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.
126. Bullman S, O'leary J, Corcoran D, et al. Molecular-based detection of non-culturable and emerging *campylobacteria* in patients presenting with gastroenteritis. *Epidemiol Infect* 2012; 140(4):684-8.
127. Wang G, Clark CG, Taylor TM, et al. Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *Fetus*. *Journal Of Clinical Microbiology* 2002; 40(12):4744-47.

128. Woz'niak-Biel A, Bugla-Płoskon'ska G, Kielsznia A, et al. High Prevalence of Resistance to Fluoroquinolones and Tetracycline *Campylobacter* Spp. Isolated from Poultry in Poland. *Microbial Drug Resistance* 2018; 24(3):314-322.
129. Lluque A, Riveros M, Prada A, et al. Virulence and Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. from a Peruvian Pediatric Cohort. *Hindawi Scientifica* 2017; 1-8.
130. Hızlısoy H, Al S, Onmaz N, ve ark. Farklı Kesimhanelerden İzole Edilen *Campylobacter* Türlerinin Virülans Genleri, Antibiyotik Duyarlılık Profilleri ve Moleküler Karakterizasyonu. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54(1):11-25.
131. Gülmez D, Gür D, Haşçelik G. ve ark. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (UEPLA) Dâhil Olan Bir Üniversite Hastanesinin Deneyimleri: Dört Yıllık *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* Verileri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2012; 42(3):85-92.
132. Wieczorek K, Szewczyk R, Osek J. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* and *C.coli* isolated from retail raw meat in Poland. *Veterinarni Medicina* 2012; 57:(6): 293–299.
133. Koolman L, Whyte P, Burgess C, et al. Distribution of Virulence-Associated Genes in a Selection of *Campylobacter* Isolates. *Foodborne Pathogens And Disease* 2015; 12(5):424-432.
134. Lapierre L, Gatica M, Riquelme V, et al. Characterization of Antimicrobial Susceptibility and Its Association with Virulence Genes Related to Adherence, Invasion, and Cytotoxicity in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolates from Animals, Meat, and Humans. *Microbial Drug Resistance* 2016; 1-13.
135. Keller J, Perreten V. Genetic diversity in fluoroquinolone and macrolide-resistant *Campylobacter coli* from pigs. *Veterinary Microbiology* 2006;113: 103–108.
136. Pham NTK, Thongprachum A, Tran DN, et al. Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni* and *C.coli* Isolated from Children with Diarrhea in Thailand and Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2016; 69:77–79.

137. Li B, Ma L, Li Y, et al. Antimicrobial Resistance of Campylobacter Species Isolated from Broilers in Live Bird Markets in Shanghai, China. *Foodborne Pathogens And Disease* 2016; 1-7.



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma/Simgesi	Tanım
AB	: Avrupa Birliđi
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AhpC	: Alkil Hidroperoksit Redüktaz
CCDA	: Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar
CDT	: Cytolethal Distending Toxin
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
GBS	: Guillain-Barré Sendromu
g	: Gravity
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
<i>iam</i>	: invazyon ilişkili belirteç
KatA	: Katalaz
İBS	: İrritabl Barsak Sendromu
LOS	: Lipooligosakkarit
LPS	: Lipopolisakkarit
mCCDA	: Modifiye Charcoal Cefoperazon Deoksikolat Agar
MHF	: Mueller Hinton Fastidious
O ₂ -	: Süperoksit Anyonu
OH•	: Hidroksil Radikali
OMP	: Dış Membran Proteini (Outer Membrane Protein)
REA	: Reaktif Artrit

ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller

- Şekil 4.1. *cadF* geni PZR görüntüsü
Şekil 4.2. *glyA* geni PZR görüntüsü
Şekil 4.3. *mapA* geni PZR görüntüsü

Sayfa

- 34
35
35



TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. <i>Campylobacter</i> Adezyon Faktörleri Tablosu	11
Tablo 3.1. <i>C.jejuni</i> ve <i>C.coli</i> için EUCAST Klinik Sınır Değer Tablosu	27
Tablo 3.2. Spesifik Primerler Tablosu	28
Tablo 4.1. Örneklerin Cinsiyete Göre Dağılımı Tablosu	30
Tablo 4.2. Örneklerin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı Tablosu	30
Tablo 4.3. Pozitif Örneklerin Cinsiyete Göre Dağılımı Tablosu	31
Tablo 4.4. Pozitif Örneklerin Servislere Göre Dağılımı Tablosu	31
Tablo 4.5. Pozitif Örneklerin Ekim Şekline Göre Dağılımı Tablosu	32
Tablo 4.6. Pozitif Örneklerin Eritrosit/Lökosit Görülme Oranları Tablosu	32
Tablo 4.7. Pozitif Örneğe Sahip Hastaların Yaş Dağılımı Tablosu	33
Tablo 4.8. İzolatların Nalidiksik Asit ve Sefalotin Testi Sonuçları Tablosu	33
Tablo 4.9. İzolatların Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları Tablosu	34
Tablo 4.10. <i>Campylobacter</i> izolatlarının direnç genleri dağılımı	35
Tablo 4.11. <i>Campylobacter</i> izolatlarının virülans genleri dağılımı	36
Tablo 5.1. Önceki yıllarda <i>Campylobacter</i> türlerinde virülans genleri ile ilgili yapılan çalışmalar	47
Tablo 5.2. Önceki yıllarda <i>Campylobacter</i> türlerinde direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalar	47