

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARS YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN KAZLARDAN TERMOFİLİK  
CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN İZOLASYONU, MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

*(DOKTORA TEZİ)*

*Esen Gül DEMİROĞLU*

**Danışman  
Prof. Dr. Mitat ŞAHİN**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

*KARS 2021*

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARS YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN KAZLARDAN TERMOFİLİK  
CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN İZOLASYONU, MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

**(DOKTORA TEZİ)**

***Esen Gül DEMİROĞLU***

**Danışman**

**Prof. Dr. Mitat ŞAHİN**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje  
No: 2019- TS- 50**

***KARS 2021***

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programında yapılmıştır.

Termofilik Kampilobakter türleri, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* ve *Campylobacter lari* üreme sıcaklıkları bakımından özellikle kanatlı hayvanlarda diğer türlerden farklılık gösterirler. Bu türler hem insanlarda hem de hayvanlarda en önemli gastroenterit etkenidir. Ayrıca *C. jejuni* başta olmak üzere termofilik türleri hayvanlarda reproduktif sistem infeksiyonlarına da yol açabilmektedir. Gıda kaynaklı infeksiyonların başında yer alan kampilobakteriyosizin insanlara bulaşının en önemli yolu, enfekte veya rezervuar kanatlılara ait kontamine et ve et ürünlerinin yeterince ısıtılma işlemi görmeden tüketimidir. Kampilobakter etkenlerinin bulaşında çapraz kontaminasyon da önemli yer tutar. Enfekte veya sağlıklı kanatlıların dışkılarıyla atılabilen termofilik türler hijyen ve sanitasyon kurallarına yeterince uyulmadığı durumlarda kanatlı karkaslarını kolaylıkla kontamine edebilmekte ve bu yönüyle kontamine kanatlı karkasları insanlar için önemli infeksiyon kaynakları olarak bilinmektedir.

Yüksek besleyici değeri ve düşük kolesterol içeriği ile alternatif protein kaynağı olarak kaz eti tüketimi başta Çin, Macaristan ve Fransa gibi ülkeler olmak üzere tüm dünyada yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde ise kaz yetiştiriciliği diğer kanatlı türlerine göre yaygın olmamakla beraber özellikle Kars, Erzurum, Ağrı ve Van gibi illerle sınırlı kalmıştır. Kars ve çevresinde yaygın olan kaz yetiştiriciliği halk elinde küçük işletmelerde geleneksel yöntemlerle yapılmaktadır. Kazlar, sonbaharda evlerde kesilip işlendikten sonra kurutulup kış mevsimi boyunca protein kaynağı olarak tüketilmektedir. Kaz kesim ve işleme tekniklerinin de geleneksel tarzda olduğu bu süreçte kaz karkasları dışkı ile kolaylıkla bulaşabilmekte ve taşıyabilecekleri patojen etkenler yönünden insan sağlığı açısından risk arz etmektedir. Bu yönü ile termofilik Kampilobakterler kontamine kanatlı karkası aracılı bulaşan ve insanlarda yaygın gastrointestinal rahatsızlıklara yol açan etkenler olarak bilinmektedir. Enfeksiyonun seyri etken ve konak belirleyicilerine göre değişmek üzere akut enterit tablosundan, şiddetli bağırsak infeksiyonlarına,

bakteriyemi, menenjitisi, reaktif artrit gibi tablolara kadar değişebilmektedir. Komplike veya antimikrobiyal direnç şekillenen olgularda prognoz daha da kötüleşerek ölümcül seyredebilmektedir.

Gıda güvenliğinin sağlanması ve halk sağlığının korunması amacıyla, Termofilik Kampilobakterler de dahil bu tür patojenlerin yaygınlıklarının belirlenmesi ve kanatlı orijinli gıdaların üretiminde uygun hijyenik ve teknolojik koşulların sağlanması ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada, Kars ve çevresinde yaygın olarak halk elinde yetiştiriciliği yapılan küçük aile tipi kaz işletmelerinden alınan kaz kloakal svap örneklerinden halk sağlığı açısından önem arz eden termofilik Kampilobakter türlerinin prevelanslarının kültürel yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, etken yaygınlığının mevsimsel değişimi, elde edilen izolatların modern mikrobiyolojik tekniklerle tanımlanması ve olası direnç genlerinin analizi araştırılmıştır. Böylelikle özellikle gıda kaynaklı zoonozlar olarak bilinen termofilik Kampilobakterlerin kaz bağırsak kolonizasyonunun boyutu, etken profili ve direnç özellikleri ortaya çıkarılmış olup kanatlı kaynaklı olası insan enfeksiyonlarının yorumlanmasına ışık tutacak veriler elde edilmiştir. .

Doktora eğitimim boyunca bana her konuda yardımcı olan, deneyim ve bilgisini paylaşmaktan kaçınmayan, saygıdeğer hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Mitat ŞAHİN'e, ayrıca öneri ve katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Salih OTLU' ya, araştırmamın her aşamasında zaman ayırıp çalışmamı takip eden ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Fatih BÜYÜK ve Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ'ye; ayrıca Doç. Dr. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM, Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK'e ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında görev yapan tüm asistan arkadaşlarıma; İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışma imkânı sunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Barış OTLU'ya, çalışmanın istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Erol AYDIN' a;

Bu zorlu süreçte her zaman yanımda olup maddi-manevi desteklerini esirgemeyen eşim Metin DEMİROĞLU'na ve özellikle gösterdikleri anlayıştan ötürü çocuklarım Demir, Derin ve Deniz'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>I</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	<b>VIII</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>X</b>
<b>RESİMLER</b> .....	<b>XII</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>XIII</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>XIV</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>XVI</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1.Tarihçe .....	4
2.2.Taksonomi .....	5
2.3. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal, Fizyolojik ve Genetik Özellikleri .....	7
2.3.1. Mikroskopik Özellikleri.....	7
2.3.2. Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri.....	7
2.3.3. Kültürel ve Fizyolojik Özellikleri.....	8
2.3.4. Genetik Özellikleri.....	12
2.4. Kampilobakter Türlerinin Olumsuz Koşullardaki Davranışları .....	12
2.4.1.VBNC Forma Dönüşme.....	12
2.4.2. Biofilm Oluşturma .....	13
2.4.3. Kokoid Forma Dönüşme.....	13
2.5. Kampilobakter Türlerinin Stres Tolerans Mekanizmaları.....	14
2.5.1. Yüksek Sıcaklık .....	14
2.5.2. Düşük Sıcaklık.....	14
2.5.3. Asit Stresi.....	14
2.5.4. Aerobik Ortam .....	14
2.5.5. Ultraviyole (UV) ve Osmatik Stres .....	15
2.6. Kampilobakter Türlerinin Patogenez ve Virülens Faktörleri .....	15
2.6.1. Motilite ve Kemotaksis .....	16
2.6.2. Adezyon .....	17
2.6.3. İnvazyon.....	17

2.6.4. Toksinler .....	18
2.6.5. Demir Kullanımı .....	19
2.6.6. Lipoolisakkarit (LOS) ve Lipopolisakkarit (LPS) .....	19
2.7. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Epidemiyolojisi .....	20
2.7.1 Salgınlar ve Salgın Türleri .....	20
2.7.2. Mevsimsel Analizler .....	21
2.7.3. İnfeksiyon Kaynakları ve Bulaş Yolları .....	22
2.7.4. Çevresel Sularda Yaygınlığı .....	24
2.7.5. Çevresel Şartlara Dayanıklılığı .....	24
2.8. Termofilik Kampilobakter Türlerinin İnfeksiyonları ve Prevalansları .....	25
2.8.1. İnsanlarda Kampilobakteriyozis ve Prevalansı .....	25
2.8.2 Hayvanlarda Kampilobakteriyozis ve Prevalansı .....	29
2.8.2.1 Kanatlı Hayvanlarda Kampilobakteriyozis .....	29
2.8.2.2. Diğer Hayvan Türlerinde Kampilobakteriyozis .....	31
2.9. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Teşhisi .....	34
2.9.1. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Klinik Teşhisi .....	34
2.9.2. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Laboratuvar Teşhisi .....	35
2.9.2.1 Klinik Örneklerin Alınması ve Taşınması .....	35
2.9.2.2 Klinik Örneklerden Termofilik Kampilobakterlerin İzolasyonu .....	35
2.9.2.3. Termofilik Kampilobakter Türlerin Mikroskopik İncelemesi .....	37
2.9.2.4 Termofilik Kampilobakter Türlerinin İdentifikasyonu .....	38
2.9.3. Termofilik Kampilobakterlerin İdentifikasyon Yöntemleri .....	38
2.9.3.1 Fenotipik Yöntemlerle İdentifikasyon .....	38
2.9.3.2 Serolojik Yöntemlerle İdentifikasyon .....	38
2.9.3.3 Genotipik yöntemlerle İdentifikasyon .....	39
2.9.3.4. Kütle Spektrometrisi ile İdentifikasyon .....	40
2.9.3.4.1. MALDI-TOF MS .....	40
2.10. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Tedavisi .....	42
2.11. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ..	42
2.11.1. Florokinolonlara Direnç Mekanizması .....	43
2.11.2. Makrolidlere Direnç Mekanizması .....	44
2.11.3. Beta Laktamlara Direnç Mekanizması .....	45

2.11.4. Tetrasiklinlere Direnç Mekanizması.....	45
2.11.5. Aminoglikozidlere Direnç Mekanizması.....	46
2.11.6. Çoklu İlaç Direnci.....	46
2.12. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	47
2.12.1. Disk Difüzyon Testi.....	48
2.12.2. E (Epsilometer)-Test.....	49
2.12.3. Dilüsyon Testleri.....	49
2.13. Termofilik Kampilobakter İnfeksiyonlarında Korunma ve Kontrol .....	49
2.14. Kaz Yetiştiriciliği ve Ekonomik Önemi .....	50
<b>3. MATERYALVE METOT .....</b>	<b>52</b>
3.1. Materyal.....	52
3.1.1. Çalışma Materyali.....	52
3.1.1.1. Çalışma Yasal İzni .....	52
3.1.1.2. Çalışma Alanı.....	52
3.1.1.3. Hayvan Kaynağı ve Çalışma Planı.....	52
3.1.1.4. Örneklem .....	52
3.1.2. Örneklerden Etken İzolasyonu İçin Gerekli Materyaller.....	53
3.1.2.1. Taşınma Besiyeri.....	53
3.1.2.2. Üretim Besiyerleri .....	54
3.1.2.2.1. Preston Broth Ön Zenginleştirme Besiyerinin İçeriği.....	54
3.1.2.2.2. Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate Agar (mCCDA) Selektif Besiyeri .....	55
3.1.2.2.3. %7 Koyun Kanlı Agar İçeriği ve Hazırlanışı.....	56
3.1.3. Termofilik Kampilobakter Etkenlerinin Kültürel İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyaller.....	57
3.1.3.1 Gram Boyama .....	57
3.1.3.2 Biyokimyasal Testler ve Ayraçları .....	58
3.1.3.2.1. Hareket Muayanesi.....	58
3.1.3.2.2. Oksidaz test kiti.....	58
3.1.3.2.3. Katalaz Test Ayırıcı.....	58
3.1.3.2.4. Hippurat Hidroliz Testi .....	59
3.1.3.2.5. İndoksil Asetat Testi .....	59

3.1.3.2.6. Nalidik Asit ve Sefalotin Antibiyotik Duyarlılık Testi .....	59
3.1.4. Etkenin Moleküler İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyaller .....	59
3.1.4.1. Moleküler İdentifikasyon İçin Kullanılan Araç, Gereç ve Cihazlar ..	59
3.1.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Reaktifleri.....	60
3.1.4.3. Elektroforez Aşamasında Kullanılan Kimyasallar.....	60
3.1.5. MALDI-TOF MS (Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı-kütle spektrometrisi) .....	60
3.1.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri İçin Gerekli Materyaller .....	61
3.1.7. Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Analizi İçin Gerekli Materyaller .....	61
3.1.8. İstatiksel Veri Analizi İçin Gerekli Materyaller .....	62
3.2. Metot .....	62
3.2.1. Örneklerin Alınması ve Taşınması .....	62
3.2.2. Etken Ön Zenginleştirme Yöntemi .....	62
3.2.3. Etken İzolasyon Yöntemi.....	63
3.2.4. Kültürel Yöntemlerle Etken İdentifikasyonu.....	63
3.2.4.1. Hareket Testi .....	63
3.2.4.2. Oksidaz Testi.....	64
3.2.4.3. Katalaz Testi.....	64
3.2.4.4. Hippurat Hidroliz Testi .....	64
3.2.4.5. İndoksil Asetat Hidroliz Testi .....	64
3.2.4.6. Nalidik Asit ve Sefalotin Duyarlılık Testi .....	65
3.2.5. Moleküler Yöntemlerle Etken Analizi.....	65
3.2.5.1. DNA Ekstraksiyonu .....	65
3.2.5.2. mPZR Analizi .....	66
3.2.5.3. Elektroforez Yöntemi.....	66
3.2.6. MALDI-TOF MS Analizi.....	67
3.2.7. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemi ile Belirlenmesi.....	67
3.2.8. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının Direnç Genlerinin Moleküler Analizi.....	68
3.2.9. Termofilik Kampilobakterlerin Çoklu İlaç Direnci (ÇİD) .....	69



3.2.10. Elektroforez Yöntemi .....	69
3.2.11. İstatiksel Analiz .....	70
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>71</b>
4.1. Örnek Orjinleri ve Dağılımı .....	71
4.2. İzolasyon Bulguları .....	71
4.2.1. İzole Edilen Termofilik Kampilobakter Etkenlerinin Aylara Göre Dağılımı .....	72
4.2.2. İzole Edilen Termofilik Kampilobakter Etkenlerinin Yaşa Bağlı Kolonizasyonu .....	73
4.3. Termofilik Kampilobakter Türlerin Kültürel Yöntemlerle İdentifikasyon Sonuçları.....	74
4.4. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının mPZR ile İdentifikasyon Bulguları..	79
4.5. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının MALDI-TOF MS ile İdentifikasyon Bulguları.....	80
4.6. Termofilik Kampilobakter Türlerin Antibiyogram Test Bulguları .....	80
4.7. Termofilik Kampilobakterlerin Direnç Genlerinin PZR Bulguları .....	82
4.7.1. bla <sub>OXA61</sub> Direnç Geninin İncelenmesi .....	82
4.7.2. tet(O) Direnç Geninin İncelenmesi .....	83
4.7.3. gyrA Direnç Geninin İncelenmesi .....	84
4.7.4. aphA-3 Direnç Geninin İncelenmesi .....	85
4.7.5. ermB Direnç Geninin İncelenmesi .....	86
4.8.Çoklu İlaç Direç Bulguları .....	87
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>89</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>116</b>
<b>7. KAYNAK.....</b>	<b>119</b>
<b>7. EKLER.....</b>	<b>120</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## SİMGELELER ve KISALTMALAR

<u>Simge- Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
GBS	Guillain-Barré Sendromu
Taq	<i>Thermus aquaticus</i> polimeraz enzimi
TBE	Tris-Borik asit – etilendiamin tetra asetik asit
WHO	World Health Organization
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
STEC	Shiga toxin-producing Escherichia coli
CLSI	Clinical and Laboratory Standart Institute
ISO	International Organization for Standardization
İam	İnvazyon ilişkili belirleyici gen
MHA	Muller Hinton Agar
AMP	Ampisilin
AZM	Azitromisin
GEN	Gentamisin
TET	Tetrasiklin
CİP	Siprofloksasin
NA	Nalidik asit
KF	Sefalotin
Bp	Baz çifti
CadF	Fibronektin bağlama proteini
cAMP	Siklik adenozin mono fosfat
CapA-B	Ototransporter protein (Adezin)
CDT	Sitoletal Distending Toksin
CetA- B	Kemotaktik protein
CeuE	Demir bağlama geni
DNA	Deoksiribonükleik asit
flaA	Flagellin A proteini
glyA	Serine hydroxymethyltransferase

<i>gryA</i>	Kinolon direnç ge
HipO	Hippurat hidrolaz enzimini salgılatan gen
ISO	International Organization for Standardization
LOS	Lipooligosakkarit
LPS	Lipopolisakkarit
MIK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MHA	Mueller Hinton Agar
MFS	Miller-Fisher Sendromu
mM	Milimolar
mm	Milimetre
mPZR	Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEB1	Periplazmik bağlayıcı protein
<i>TetO</i>	Tetrasiklin direncinden sorumlu gen
VBNC	Canlı fakat kültüre edilemeyen
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{l}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre

## TABLOLAR

<b>Tablo 1.</b> Kampilobakterlerin taksonomisi (Hannsson 2007).....	5
<b>Tablo 2.</b> Kampilobakter cinsinde yer alan bakteri tür ve alt türleri ile oluşturdukları hastalıklar (Nachamkin 2007). .....	6
<b>Tablo 3.</b> Termofilik Kampilobakter türlerinin genel biyokimyasal özellikleri (George ve ark. 2005).....	8
<b>Tablo 4.</b> Termofilik Kampilobakter türlerinin üreme özellikleri (Karakuş 2011). ....	9
<b>Tablo 5.</b> Kampilobakterlerin kültürel analizi için kullanılan selektif besiyerleri ve içerikleri (Winn ve ark. 2006).....	9
<b>Tablo 6.</b> Bazı kampilobakter türlerin koloni morfolojileri (Songer ve Post 2005). ..	11
<b>Tablo 7.</b> Bazı antiseptik ve dezenfektanların Kampilobakterler üzerine etkinlikleri.	25
<b>Tablo 8.</b> Türkiye’de 2000 – 2020 yılları arasında insanlarda Kampilobakter enfeksiyonları üzerine yapılan bazı çalışmalar, izolasyon oranları ve çalışmanın yapıldığı iller. ....	29
<b>Tablo 9.</b> Farklı ülkelerde kanatlı etlerinden elde edilen termofilik Kampilobakter izolatlarının tür dağılımı (Suzuki ve Yamamoto 2009). ....	31
<b>Tablo 10.</b> Modifiye Carry- Blair Besiyeri içeriği.....	53
<b>Tablo 11.</b> Brucella Broth içeriği.....	54
<b>Tablo 12.</b> Preston Campylobacter Selective Supplement içeriği. ....	55
<b>Tablo 13.</b> Campylobacter Growth Supplement içeriği.....	55
<b>Tablo 14.</b> m CCDA besiyeri içeriği.....	56
<b>Tablo 15.</b> Antibiyotik Solusyon (CCDA Selective Supplement) içeriği.....	56
<b>Tablo 16.</b> Blood Agar Base no:2 besiyeri içeriği. ....	57
<b>Tablo 17.</b> Mueller- Hinton besiyeri içeriği.....	61
<b>Tablo 18.</b> mPZR’de kullanılan primer çiftleri ve beklenen bant büyüklükleri. ....	66
<b>Tablo 19.</b> Kampilobakterler için disk difüzyon test sınır değer tablosu. ....	68
<b>Tablo 20.</b> Termofilik Kampilobakter analizi için reaksiyon bileşenleri.....	68
<b>Tablo 21.</b> Antimikrobiyal direnç genlerinin tanımlanması için kullanılan primerler ve PZR reaksiyonları.....	69
<b>Tablo 22.</b> Kültürel Yöntemler ile belirlenen termofilik Kampilobakterlerin tür dağılımı. ....	78

<b>Tablo 23.</b> Kùltürel yöntemler, mPZR ve MALDI-TOF MS'e ait termofilik Kampilobakter identifikasyon bulguları. ....	80
<b>Tablo 24.</b> Termofilik Kampilobakter suşlarının antimikrobiyal direnç aktiviteleri. .	82
<b>Tablo 25.</b> Direnç görölen izolatlardan PZR ile saptanan direnç gen profilleri. ....	86
<b>Tablo 26.</b> Çoklu İlaç Direnç profilleri ve saptanan direnç genlerinin oranları. ....	87



## RESİMLER

<b>Resim 1.</b> Termofilik Kampilobakter türlerinin mCCDA besiyerindeki farklı koloni morfolojisi.....	10
<b>Resim 2.</b> Kampilobakterlerin koloni morfolojisinin a) Skirow (kanlı) ve b) CCDA (kömürlü) besiyerlerindeki görünümü. ....	37
<b>Resim 3.</b> MALDI-TOF MS yönteminin aşamaları (Santos ve ark. 2016).....	42
<b>Resim 4.</b> mCCDA selektif besiyerinde üreyen kolonilerin görünümü.....	71
<b>Resim 5.</b> Termofilik Kampilobakter şüpheli mikroorganizmaların gram boyama sonrası X100'lük ışık mikroskopundaki görünümü.....	72
<b>Resim 6.</b> Termofilik Kampilobakter izolatlarının pozitif oksidaz (a) ve katalaz (b) reaksiyonlarına ait görünümü.....	75
<b>Resim 7.</b> Termofilik Kampilobakter izolatlarının hippurat hidroliz testi sonucu oluşan koyu mor renk görünümü. ....	76
<b>Resim 8.</b> Termofilik Kampilobakter indoksil asetat test sonucu striplerdeki renk değişimi. ....	77
<b>Resim 9.</b> <i>C. coli</i> olarak tanımlanan izolatların Nalidik asit etrafında zon oluşturması ve Sefalotin antibiyotiğine direnç oluşumu. (NA: Nalidik asit ve KF: Sefalotin antibiyotik diskleri) .....	77
<b>Resim 10.</b> Mueller-Hinton agarda yapılan antimikrobiyal duyarlılık disk difüzyon testi sonucu oluşan inhibisyon zon görünümü.CN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, AZM: Azitromisin, AMP: Ampisilin ve TE: Tetrasiklin.....	81

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.</b> Kampilobakterlerin gıda, hayvan ve çevredeki yaşam döngüsü (Altekruse ve Tollefson 2003). .....	20
<b>Şekil 2.</b> AB’de 2018 yılında bildirilen zoonoz vaka sayısı (EFSA 2018). .....	26
<b>Şekil 3.</b> İzole edilen termofilik Kampilobakter türlerin aylara göre dağılım oranları (%).....	73
<b>Şekil 4.</b> Termofilik Kampilobakterlerin günlük yaşa bağlı kloakal kolonizasyonu. .	74
<b>Şekil 5.</b> Termofilik Kampilobakter türlere ait elektroforetik görüntü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol. 1-15: C. jejuni ve C. coli izolatları. 5. örnek 126 bp uzunluğunda C.coli izolatını gösterirken; diğer örnekler 323 bp uzunluğunda C. jejuni izolatlarını göstermektedir.....	79
<b>Şekil 6.</b> Ampisiline dirençli izolatlardan, 1-10 arası bla <sub>OXA-61</sub> gen bölgesinin 372 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. ....	83
<b>Şekil 7.</b> Tetrasikline dirençli izolatlardan 1-14 arası Tet(O) gen bölgesinin 559 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. ....	84
<b>Şekil 8.</b> Siprofloksasine dirençli izolatlardan 1-13 arası gyrA gen bölgesinin 620 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. ....	85
<b>Şekil 9.</b> Gentamisine dirençli izolatlardan 1-4 arası <i>aphA-3</i> gen bölgesinin 701 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. ....	86

## ÖZET

**Kars Yöresinde Yetiştirilen Kazlardan Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyonu, Moleküler Yöntemlerle İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi**

Termofilik Kampilobakter türleri yabani ve evcil kanatlıların sindirim sisteminde bulunan ve zoonotik karakterleri ile insanlarda infeksiyon oluşturan bakterilerdir. Kanatlılarda yaygın asemptomatik kolonizasyonunun yanı sıra diyare, hepatit ve yumurta veriminde azalma gibi nispeten ılımlı infeksiyonlara yol açan *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* ve *Campylobacter lari* gibi termofilik türler, insanlarda gözlenen en yaygın gastroenteritis etkenleri arasındadır. Enfekte hayvanlarla direkt temas veya bu hayvanların dışkılarıyla bulaşık su ve az pişmiş gıdaların (özellikle kanatlı karkası) tüketilmesi sonucu bulaşan termofilik Kampilobakter infeksiyonlarının epidemiyolojisinde kanatlıların kloakal etken taşıyıcılığı önemli rol oynar. Bu çalışmada, Kars yöresinde yaygın yetiştiricilik alanı olan kazlarda termofilik Kampilobakter türlerinin kloakal varlığının ve yaygınlığının araştırılması amaçlandı. Bu kapsamda kolokal svap örneklerinden termofilik Kampilobakter türlerin kültürel yöntemlerle izolasyonu, moleküler ve kütle spektrofotometresi ile identifikasyonu ve izolatların antimikrobiyal madde duyarlılıklarının kültürel ve moleküler yöntemlerle analizi hedeflendi.

Çalışma materyalini, Kars il merkez ve ilçelere ait köylerde aile tipi kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı farklı işletmeden alınan klinik olarak sağlıklı 400 kaza ait kloakal sıvap örneği oluşturdu. Kloakal sıvap örneklerinden termofilik Kampilobakter türlerinin izolasyonu %7 defibrine at kanı, *Campylobacter* Growth Supplement ve Preston *Campylobacter* Selective Supplement içeren 10 ml Brucella Brot besiyerinde 42 °C’de mikroaerobik ortamda 48-72 saat ön zenginleştirmeyi takiben, örneklerin selektif besiyerine (Modified Charcoal Cephoperozone Deoxycholate Agar (mCCDA)) ekilmesi ve mikroaerobik şartlarda 42 °C’de 48-72 saat inkübasyonu sonrası gerçekleştirildi. Üreme karakteristikleri, makroskobik ve mikroskobik morfolojilerine göre *Campylobacter spp.* ön tanısı konulan etkenlerin identifikasyonu multipleks PZR (m-PZR) ve MALDI-TOF MS (VITEK-MS, BioMerieux) ile yapıldı. Termofilik Kampilobakter izolatlarının antimikrobiyal madde duyarlılıkları disk difüzyon tekniği ile belirlendi. Bu kapsamda, Azitromisin (15 µg), Tetrasiklin (30 µg), Siprofloksasin (5 µg), Gentamisin (10 µg) ve Ampisilin



(10 µg) antibiyotik duyarlılıkları test edildi. İlgili antibiyotiklere karşı olası dirençten sorumlu olan yaygın direnç genlerinin analizi PZR ile gerçekleştirildi. Bu amaçla, Azitromisin direnci için *ermB*, Gentamisin için *aphA-3*, Tetrasiklin için *tetO*, Siprofloksasin için *gyrA* ve Ampisilin için *bla<sub>OXA61</sub>* direnç genleri araştırıldı. Veriler, SPSS Statistic 20.0 programı ile analiz edildi ve yorumlandı.

Çalışmada, Ocak-Ekim 2020 ayları arasında Kars il merkez ve ilçelere bağlı farklı işletmeden alınan 400 kaz kloakal sıvap örneğinin kültürel analiz sonrası 157 (%39,3)'sinden etken izolasyonu gerçekleştirildi ve *Campylobacter spp.* ön tanısı konuldu. *Campylobacter spp.* olarak tanımlanan izolatların mPZR analizleri sonrası 151 (%96,2)'i *C. jejuni* ve 6 (%3,8)'sı *C. coli* olarak tanımlandı. Tanımlanan izolatların 125'inin MALDI-TOF MS ile analizleri gerçekleştirildi. Böylelikle mPZR ile %100 uyumlu şekilde izolatların 119 (%95,2)'u *C. jejuni* ve 6 (%4,8)'sı *C. coli* olarak doğrulandı. Antimikrobiyal madde duyarlılık testleri sonucu 157 izolatın 53 (%33,8)'ü Ampisiline, 65 (%41,4)'i Tetrasikline, 118 (%75,2)'i Siprofloksasine, 19 (%12,1)'u Gentamisin ve 12 (%7,6)'si Azitromisine dirençli saptandı. Dirençli izolatlar arasında PZR ile saptanan ilgili direnç gen pozitifliği; *bla<sub>OXA61</sub>* için 19 (%35,2), *tetO* için 59 (%90,8), *gyrA* için 60 (%50,8) ve *aphA-3* için 10 (%52,7) belirlendi. Azitromisine dirençli izolatlar arasında *ermB* direnç genine rastlanılmadı.

Kaz yetiştiriciliğinde lokal ve geleneksel olarak önemli bir paya sahip olan Kars yöresinde kazlarda termofilik Kampilobakterlerin kloakal kolonizasyonu yüksek saptanmıştır. Temel bulaşmanın dışkı ile bulaşık ve yeterince ısı işlem görmemiş kanatlı karkaslarının tüketimi aracılı olduğu Kampilobakter enfeksiyonlarında kazların kloakal etken taşıyıcılığı ve dışkı ile nihai saçılımları halk sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir. İşletme düzeyinde gerçekleştirilecek biyogüvenlik uygulamaları, gıda üretim zincirinde alınacak hijyenik önlemler ve etkenlerin periyodik izlenmesi, insanlarda enfeksiyonların insidansını azaltacak hamleler olarak öngörülmektedir. Ayrıca izolatlar arasında yaygın antibiyotik direncinin belirlenmesi, tedavi için doğru antibiyotik tercihini ve gelişigüzel antibiyotik kullanımının sınırlanmasını önemli kılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Campylobacter spp.*, kaz, mPZR, MALDI-TOF MS, antibiyotik direnci

**SUMMARY****Isolation, Identification by Molecular Methods and Determination of Antibiotic Susceptibility of Thermophilic *Campylobacter* species from Geese Raised in Kars Region, Turkey**

Thermophilic *Campylobacter* species are bacteria that found in the digestive system of wild and domestic poultry and cause infection in humans by their zootic characters. Thermophilic *Campylobacter* species such as *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lari*, which cause widespread asymptomatic colonization in poultry, besides of relatively mild infections such as diarrhea, hepatitis and decreasing in egg production, are among the most common causes of gastroenteritis observed in humans. Cloacal agent carrier features of poultry play an important role in the epidemiology of thermophilic *Campylobacter* infections, which are transmitted by direct contact with infected animals or by consuming water and undercooked foods (especially poultry carcass) contaminated with the feces of these animals. In this study, it was aimed to investigate the cloacal presence and prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in geese, which are widely raised in Kars region of Turkey. In this context, isolation of thermophilic campylobacteria from colocal swab samples by cultural methods, identification by molecular and mass spectrophotometry, and analysis of antimicrobial agent sensitivity of isolates by conventional and molecular methods were worked up.

The study material was composed of cloacal swab samples of 400 clinically healthy geese taken from different farms where family-type goose breeding carried out in the villages belong to Kars city center and districts. Isolation of thermophilic *Campylobacter* species from cloacal swab samples was initiated with a pre-enrichment step performed with the cultivation of the samples in 10 ml Brucella Broth supplemented with 7% defibrinated horse blood, *Campylobacter* Growth Supplement and Preston *Campylobacter* Selective Supplement at 42°C for 48-72 hours incubation under microaerobic conditions. Subsequently, the samples were cultivated on selective medium (Modified Charcoal Cephoperzone Deoxycholate Agar (mCCDA)) and incubated for 48-72 hours at 42°C under microaerobic conditions. Identification of the agents, which were preliminarily diagnosed as *Campylobacter spp.* according to their growth characteristics, macroscopic and microscopic morphological findings, was performed by multiplex PCR (m-PCR) and MALDI-TOF MS (VITEK-MS, BioMerieux). Antimicrobial susceptibilities of

thermophilic *Campylobacter* isolates were determined by disk diffusion technique. In this context, Azithromycin (15 µg), Gentamicin (10 µg), Tetracycline (30 µg), Ciprofloxacin (5 µg) and Ampicillin (10 µg) antibiotic susceptibilities were tested. Analysis of common resistance genes responsible for possible resistance to the relevant antibiotics was performed by PCR. For this purpose, *ermB* for Azithromycin resistance, *aphA-3* for Gentamicin, *tetO* for Tetracycline, *gyrA* for Ciprofloxacin and *bla<sub>OXA61</sub>* for ampicillin were investigated. The data were analyzed and interpreted with the SPSS Statistic 20.0 program.

In the study, agent isolation was achieved from 157 (39.3%) of 400 goose cloacal swab samples taken from different farms in Kars center and districts between January and October 2020 and a pre-diagnosis of *Campylobacter spp.* was made. After mPCR analysis of the isolates, 151 (96.2%) were identified as *C. jejuni* and 6 (3.8%) as *C. coli*. 125 of the identified isolates were analyzed by MALDI-TOF MS. Thus, 119 (95.2%) of the isolates were confirmed as *C. jejuni* and 6 (4,8%) as *C. coli*, which was found 100% compatible with the mPCR. As a result of antimicrobial substance susceptibility tests, 53 (33.8%) of 157 isolates were found to be resistant to Ampicillin, 65 (41.4%) to Tetracycline, 118 (75.2%) to Ciprofloxacin, 19 (12.1%) to Gentamicin and 12 (7.6%) to Azithromycin. Among the resistant isolates, the relevant resistance gene positivity was detected by PCR; 19 (35.2%) for *bla<sub>OXA61</sub>*, 59 (90.8%) for *tetO*, 60 (50.8%) for *gyrA* and 10 (52.7%) for *aphA*. No *ermB* resistance gene was found among the isolates resistant to Azithromycin.

Cloacal colonization of thermophilic *Campylobacteria* in geese has been found to be high in Kars region, which has an important share in goose breeding locally and traditionally. In *Campylobacter* infections, where the main contamination is mediated by contamination with feces and consumption of poultry carcasses that are not sufficiently heat-treated, the cloacal agent carriers of geese and their final dispersal with faeces may pose a risk to public health. Biosecurity practices to be carried out at the farm level, hygienic measures to be taken in the food production chain and periodic monitoring of the agents are predicted as moves that will reduce the incidence of human infections. In addition, determination of widespread antibiotic resistance among the isolates makes it important to choose the correct antibiotics for treatment and to limit the use of randomly antibiotic uses.

**Keywords:** *Campylobacter spp.*, goose, mPCR, MALDI-TOF MS, Antibiotic resistance

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kampilobakterler dünya genelinde hem insanlarda hem de hayvanlarda gastroenteritlerin nedenidir. Ayrıca hayvanlarda reproduktif sistem enfeksiyonlarına da yol açabilmektedirler. Zoonoz olan bu etkenler enfekte ve sağlıklı kanatlıların gastrointestinal sisteminde bulunabilmektedirler. Bu yönüyle kanatlı hayvanların termofilik Kampilobakterlerin rezervuarı olarak bilinirler (Baston 2009). Termofilik Kampilobakter enfeksiyonların çoğuna *Campylobacter jejuni* sebep olurken, bunu *Campylobacter coli* takip etmektedir (Lawson 2011). Termofilik türlerden ileri gelen enfeksiyonlardan dolayı gelişen hastalık tabloları ve klinik maliyet, sağlık ve sosyoekonomik manada sorun teşkil etmektedir (Nachamkin 1997).

Termofilik Kampilobakter türleri çevresel koşullara dayanıksız olmalarına karşın, biyofilm oluşturmaları ve canlı ancak kültüre edilemeyen forma (VBNC) dönüşmeleri olumsuz koşullarda da varlığını sürdürmesini sağlamaktadır (Nachamkin 1997). Ayrıca kanatlı hayvanlarda etken kolonizasyonundamevsimsel zirveler görülmektedir (Leflon ve Munier 2016). Özellikle ılıman ve nemli bölgelerde, ilkbahar ve yaz aylarında hava sıcaklıklarının artmasıyla kampilobakterlerin çevrede daha fazla hayatta kalması ve kanatlı hayvanlarda yayılımının artması için elverişli olduğu belirtilmiştir (Kalupahana ve ark. 2018). Bütün bu nedenler kanatlı aracılı bulaşı ile termofilik Kampilobakter türlerinin insan sağlığı açısından yüksek risk oluşturabileceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır (Park 2002).

Kanatlı hayvancılık sektöründe ülkemizde dâhil birçok ülkede tavuk yetiştiriciliği önde gelse de kaz ve ördek gibi türlere ait ürünler tüketiciler tarafından sadece damak zevki için değil aynı zamanda besin değeriyle de tercih edilmektedir (Wysok ve ark. 2020). Kaz yetiştiriciliği açısından Türkiye’de ilk sırada yer alan Kars ilinde özellikle kaz yetiştiriciliği ve kaz eti üretimi mevsimsel bir döngüye sahip olup, ilkbaharda başlar ve sonbaharda sona erer. Geleneksel yetiştiriciliğinyaygın olduğu ve hijyenik ve sanitasyondan uzak teknolojik olmayan kesim ve işleme yöntemlerinin uygulandığı bu yetiştiricilik tarzında bağırsak yerleşkesi müspet olan termofilik Kampilobakter türlerinin kaz karkaslarını

kontamine edebilmesi her zaman olasılık dahilindedir. Dolayısıyla zoonoz karakterli bu etkenlerin insan sağlığı açısından önem arz edeceği düşünölmektedir.

Kampilobakter enfeksiyonlarının kesin tanısı laboratuvar yöntemleri ile yapılmaktadır. Birçok enfeksiyöz etkenin teşhisinde altın standart olarak bilinen etken izolasyonu termofilik Kampilobakterlerin için de geçerli olup, bu yöntemin olumsuz tarafı dışkıdan izolasyonun zor ve zahmetli olmasıdır (Jerris ve ark. 2010). İzolasyonu takiben bakterinin fenotipik özelliklerini ortaya koyan konvansiyonel yöntemlerle identifikasyon gerçekleştirilebilmekte fakat bazı durumlarda fenotipik testler yeterli olmamaktadır (Nakari ve ark. 2008). Bu durumda standardize edilmiş PZR tabanlı moleküler yöntemler daha güvenilir tanı imkânı vermektedir. Son dönemlerde kütle spektrometrisi ve veri analizi yazılımlarında önemli ilerlemeler kaydedilmiş. Bu alanda Matriks ile ilişkili lazer desorpsiyon iyonizasyonu-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)), standart yöntemlerle karşılaştırıldığında hız ve maliyet açısından mikrobiyal enfeksiyonların teşhisinde oldukça dikkat çekmektedir (Beesede ve ark. 2010).

Kampilobakter enfeksiyonlarının prognozu açısından hızlı teşhisinin gerçekleştirilmesi kadar doğru tedavi seçeneklerinin uygulanması da önemlidir. İnsanlarda Termofilik Kampilobakterlerin tedavisinde florokinolon, makrolid, aminoglikozit, beta-laktamlar ve tetrasiklin antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır (Allos 2001, Jonker ve Picard 2012). Antibiyotik tedavisinden önce etkenlerin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi ve bu doğrultuda uygun tedavi rejiminin uygulanması tedavi başarı oranını artırmaktadır. Kampilobakter türleri yıllar içinde birçok antimikrobiyal maddeye karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmiştir (di Giannatale ve ark. 2014). Antimikrobiyal maddelere karşı gelişen bu direncin artmasının nedenleri arasında antibiyotiklerin kolay ulaşılabilir olmaları ve sınırsız kullanımının yanı sıra kanatlı hayvanlarda da büyümeyi hızlandırıcı olarak yaygın kullanımları sayılabilir (Ivone 2013). Saptanacak etken ve antibiyotik duyarlılık profillerine göre düzenlenecek yeni terapötik yaklaşımlarla Kampilobakter enfeksiyonlarında tedavide başarı oranı artırılabilir.

Bu çalışmada;

Kars yöresinde aile tipi kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerden alınan kaz kloakal sıvı örneklerinde termofilik *Kampilobakter* türlerinin kültürel yöntemlerle araştırılması; izolatların konvansiyonel, moleküler (PZR temelli) ve MALDI-TOF kütle spektrometrisi ile tanımlanması ve tanımlanan suşların antimikrobiyal madde duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda;

**Hedef 1:** Kars yöresinde lokal kaz işletmelerinden toplanan kaz kloakal sıvı örneklerinden termofilik *Kampilobakter* türlerinin kültürel yöntemlerle izolasyonu ve konvansiyonel tekniklerle tanımlanması

**Hedef 2:** İzolatların, tür spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile tanımlanması

**Hedef 3:** İzolatların, Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanması

**Hedef 4:** İzolatların antimikrobiyal madde duyarlılıklarının disk difüzyon tekniği ile belirlenmesi ve olası direnç genlerinin PZR ile analizlerinin yapılması hedeflenmektedir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Tarihçe

Kampilobakter türleri, ilk olarak 1886 yılında Theodor Escherich tarafından ishalleri çocukların dışkı örneklerinden tanımlanmıştır (Shulman ve ark. 2007). Etken, ilk başta insanlarda kolera hastalığının etkeni ile aynı grupta yer alarak “Vibrio” cins ismi ile adlandırılmıştır (Skirrow 2006). İngiliz Veteriner Hekimler McFadyean ve Stockman etkeni ilk kez 1913 yılında atık yapmış bir koyun fetal dokusundan spiral ve hareketli ‘Vibrio benzeri’ bir bakteri olarak izole etmişlerdir (Blaser 1997; McFadyean ve Stockman 1913). Daha sonra Amerika Birleşik Devletleri’nde, 1919 yılında Theobald Smith ve Marian Taylor, abort yapmış sığır fetus dokularından benzer bir bakteri izole etmiş ve bu bakteriyi ‘*Vibrio fetus*’ olarak adlandırmışlardır (Smith ve Taylor 1919). Jones ve ark. (1931)’ları tarafından yapılan çalışmada, sığırların dizanterik jejunumdaki patolojik bulgularından dolayı o dönem ki ismi ile etken ‘*Vibrio jejuni*’ olarak adlandırmıştır (John ve ark. 1931). Doyle ise 1944 yılında domuz dizanterisinin etkeni olarak izole ettiği bakterileri ‘*Vibrio coli*’ olarak isimlendirmiştir (Doyle 1944). King, 1957 yılında yapmış olduğu bir çalışmada gastroenteritli bir çocuğun kan örneğinden biyokimyasal ve serolojik özellikleri farklı iki grup *Vibrio* izole etmiştir. İzole ettiği *Vibrio*’ların üremek için yüksek ısıya ihtiyaç duyduğunu belirlemiş ve etkene ‘*Termofilik Vibrio*’ adını vermiştir (Doyle 1981).

Fransız araştırmacılar Sebald ve Veron, 1963 yılında, *Vibrio* olarak adlandırılan bu bakterinin DNA benzerlikleri bakımından *Vibrio*’lardan farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu bakterinin kültürel özelliklerini incelediklerinde aerobik ortamda üreyememeleri ve karbonhidratları fermente edememelerinden dolayı *Vibrio*’lardan farklı bir cins olduğunu kanıtlamışlardır. Çalışmaların sonucunda bu bakterilere ‘*Kıvrık Bakteri*’ anlamına gelen yeni bir cins ismi ‘*Campylobacter*’ verilmiştir (Ketley 1997).

Daha sonraki yıllarda mikroaerofilik özellikteki mikroorganizmalar üzerinde birçok çalışma yapılmış ve önceden *V. jejuni* ve *V. coli* olarak isimlendirilen türler *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* olarak değiştirilerek *Campylobacter* cinsi içerisinde yer almıştır (Butzler 2004).

## 2.2.Taksonomi

Kampilobakterler ve kampilobakter benzeri diğer bakteriler sınıflandırılırken, bakteri genomundaki DNA benzerlikleri hedef alınmıştır. Yüksek derecede korunaklı olan DNA yapısına bağlı olarak gerçekleştirilen evrimsel analiz, DNA-RNA hibridizasyon yöntemleri, 16S ribozomal RNA sekans analizleri ve immün tiplendirme teknikleri ile gerçekleştirilmiştir (Van Damme ve ark. 1991). Yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda Kampilobakter'ler, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 2001 baskısında Proteobacteriaların Epsilon alt sınıfına bağlı 'rRNA süperfamilya VI' içinde sınıflandırılmışlardır. Bu süperfamilya *Campylobacteraceae* ve *Helicobacteraceae* ailelerini içermekte olup, *Campylobacteraceae* ailesi içerisinde *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Sulfurospirillum* ve *Thiovulum* bakteri cinsleri yer almaktadır (Tablo 1) (Garrity 2001).

**Tablo 1.** Kampilobakterlerin taksonomisi (Hannsson 2007)

<b>Domain</b>	<b><i>Bacteria</i></b>
<b>Phylum</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Class</b>	<i>Epsilonproteobacteria</i>
<b>Order</b>	<i>Campylobacterales</i>
<b>Family</b>	<i>Campylobacteraceae</i>
<b>Genus</b>	<i>Campylobacter</i>

Son olarak 2007 yılında yapılan çalışmalarda, *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* cinsleri *Campylobacteraceae* familyasında, Proteobacteria grubuna bağlı Epsilon alt grubu olan *Epsilonproteobacteria* sınıfında yer almıştır (Nachamkin 2007).



**Tablo 2.** Kampilobakter cinsinde yer alan bakteri tür ve alt türleri ile oluşturdukları hastalıklar (Nachamkin 2007).

Etken Adı	Konak	Hastalık tabloları	
		İnsan	Hayvan
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	İnsan, sığır, yabani ve evcil kanatlılar, evcil hayvanlar	İshal, sistemik hastalıklar, GBS, reaktif artrit	İshal, abort, bağırsak kommensali
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	İnsan	İshal	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Sığır, koyun	Abort, sistemik hastalıklar, ishal	Abort
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Sığır	Hastalık oluşturmaz	Abort, infertilite
<i>Campylobacter coli</i>	Domuz, kanatlı hayvanlar, kedi	İshal	Abort, ishal, bağırsak kommensali
<i>Campylobacter lari</i>	Kanatlı hayvanlar, köpek	İshal	Abort, ishal, bağırsak kommensali
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Evcil hayvanlar, kanatlı hayvanlar	İshal	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Sığır, domuz, hamster, geyik	Proktitis, ishal	Proliferatif enteritis
<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Domuz	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter mucosalis</i>	Domuz	İshal	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>sputorum</i>	İnsan	Ağız infeksiyonları, apseler	Genital sistem hastalıkları, koyunlarda abort
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>paraureolyticus</i>	Sığır	İshal	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>faecalis</i>	Sığır, koyun	Hastalık oluşturmaz	Enteritis
<i>Campylobacter lanienae</i>	Domuz, sığır	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter insulaenigrae</i>	Deniz memelileri	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter hominis</i>	İnsan	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter concisus</i>	İnsan	Ağız ve diş infeksiyonları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter curvus</i>	İnsan	Ağız ve diş infeksiyonları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter rectus</i>	İnsan	Ağız ve diş infeksiyonları, pulmoner hastalıklar	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter showae</i>	İnsan	Ağız ve diş infeksiyonları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter helveticus</i>	Köpek, kedi	Hastalık oluşturmaz	İshal
<i>Campylobacter gracilis</i>	İnsan	Baş ve boyun infeksiyonları	Hastalık oluşturmaz

\*GBS: Guillain Barre Sendromu

Son yıllarda Kampilobakter cinsine yönelik birçok çalışma yapılmakta olup, bu cinsin taksomisi, yeni türlerin bulunması ile genişlemekte yeni taksonomik

grupların oluşturulması önerilmektedir (Perez-Cataluna ve ark. 2018). Günümüzde *Campylobacter* cinsi 32 tür, 11 alt tür ve 3 biovardan oluşmaktadır (Miller ark. 2017).

### **2.3. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal, Fizyolojik ve Genetik Özellikleri**

#### **2.3.1. Mikroskopik Özellikleri**

Termofilik Kampilobakter türlerinin içerisinde yer alan *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis*, 0,5–5 µm uzunluğunda ve 0,2–0,9 µm genişliğinde, Gram negatif, hareketli, spor oluşturmeyen, spiral, S ve V harfleri biçiminde ya da virgül ve martı kanadı şeklinde mikroorganizmalardır (Nachamkin 2007, Simibert 1984). Termofilik Kampilobakterlerin mikroskopik morfolojilerinde eski kültürlerde ve elverişsiz ortam koşullarında spiralden kokoid forma geçiş yaptığı gözlenmiştir (Cappelier ve Federighi 1998, Thomas 2002). Termofilik Kampilobakterler basilin her iki ucuna yerleşmiş kılıfsız mono ya da bipolar monotrik flagellaları sayesinde aktif vidalama hareketi yapmakta ve flagella uzunlukları bazen bakterinin 2-3 katına kadar ulaşabilmektedir (Hazelegar ve ark. 1998). Ayrıca flagella ile ilgili olarak *FlaA* ve *FlaB* genlerine de sahiptir. Termofilik Kampilobakterler kapsül ve fimbria bulundurmazlar (Holt ve ark. 1994).

#### **2.3.2. Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri**

Kampilobakterlerin biyokimyasal ve metabolik aktiviteleri türler arasında değişkenlik gösterir. Termofilik Kampilobakter türleri içerisinde yer alan *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* oksidaz ve katalaz pozitif sonuç verirken sadece *C. upsaliensis*'in bu reaksiyonları zayıf pozitif ve negatiftir. Nitratı redükte edebilirler fakat jelatini ve üreyi hidroliz edemezler ve lipaz aktiviteleri bulunmamaktadır (Smibert 1984). Ayrıca karbonhidratları oksidatif ve fermentatif olarak kullanamadıkları için Voges Proskauer ve Metil kırmızısı testleri negatiftir. Enerji ihtiyaçlarını glutamin, glutamik asit, asparjin ve aspartik asit gibi aminoasitlerin yıkımından ve trikarboksilik asit döngüsünün ara ürünlerinden sağlarlar. Yüksek miktarda sitokrom B ve C'ye sahiptirler (Nachamkin 1997, Smibert 1984). Tablo 3' te görüldüğü gibi

termofilik Kampilobakter türlerin önemli biyokimyasal özelliklerinden hippurat hidroliz testi sadece *C. jejuni* için pozitifdir. Ayrıca *C. jejuni* ve *C. coli* Nalidik aside duyarlı iken *C. lari* dirençlidir (Silva ve ark. 2011).

**Tablo 3.** Termofilik Kampilobakter türlerinin genel biyokimyasal özellikleri (George ve ark. 2005).

Tür	Biyokimyasal Testler						
	Katalaz	Oksidaz	Hippurat	H <sub>2</sub> S	İndoksil asetat	Nalidik asit	Sefalotin
<i>C.jejuni</i>	+	+	+	-	+	R	S
<i>C. coli</i>	+	+	-	-	+	R	S
<i>C. lari</i>	+	+	-	-	-	d	R
<i>C.upsaliensis</i>	-	+	-	-	+	S	S

S: Duyarlı, R: Dirençli, d: Değişken

### 2.3.3. Kültürel ve Fizyolojik Özellikleri

Termofilik Kampilobakterler mikroaerobik ortamlarda üreyen bakterilerdir. Optimum üreme ısıları normal fekal floranın gelişimini baskılayan 42 °C'dir. Yüksek sıcaklıkta varlıklarının sürdürebilmelerinin sebebi etkenin kolonizasyonda da etkili olduğu düşünülen ısı şok proteinlerini (*HspR* ve *HrcA*) sentezleyebilmeleridir. Bu bakteriler, 30°C 'nin altında ise ısı şoku proteinlerini sentezleyemedikleri için canlılıklarını sürdüremezler (Levin ve ark. 2007). Bakteriler optimal üremesi için gerekli olan uygun mikroaerobik ortam, desikatör veya jar içerisine anaerobik havanın alınıp yerine %5 O<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub> ve %85 N<sub>2</sub> gazlarının verilmesi ile sağlanabilir. Alternatif olarak mum ya da ticari mikroaerobik ortam kitlerinin desikatör veya jar içerisine yerleştirme ile de mikroaerobik ortam sağlanabilmektedir (Fitzgerald ve ark. 2009).

Termofilik Kampilobakterler aerobik ortamlara, asidik ve yüksek osmotik çevreye, kuruma ve aşırı sıcaklığa karşı kırılabilir bakterilerdir (Blaser 1997). Alkalenmetilen mavisi, kristal viyole ve karbol fuksinle iyi boyanırlar (Smibert 2005). Kurumaya karşı oldukça duyarlı oldukları için 0,97'nin altındaki su aktivite (aw) değerlerinde canlı kalamazlar. %1 glisin, %0,5 NaCl ve 6,5 -7,5 pH, üreyebildikleri ortam özellikleridir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Termofilik Kampilobakter türlerinin üreme özellikleri (Karakuş 2011).

Özellik	Minimum	Optimum	Maksimum
Ph	4,9	6,5-7,5	~9
NaCl (%)	-	0,5	1,5
Su aktivitesi (aw)	>0,987	0,997	-
Atmosfer	-	% 5O <sub>2</sub> - %10 CO <sub>2</sub>	-
Sıcaklık	37	42 – 43	45

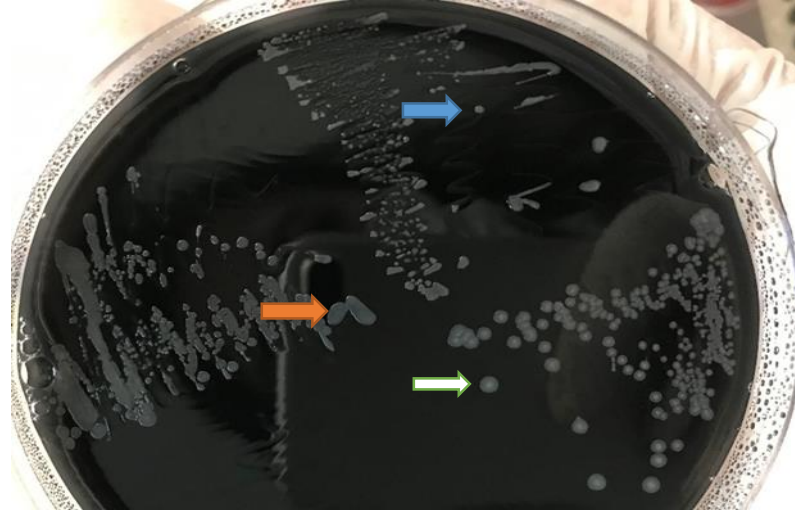
Kampilobakterler normal bağırsak florasında bulunan fakat in vitro ortamlarda geç ve güç üreyen kültürü zahmetli bakterilerdir. Tablo 5’ te görüldüğü gibi mikroorganizma popülasyonunun yoğun olduğu bağırsak flora örneklerinden Kampilobakterlerin üretilmesi için çeşitli antimikrobiyallerle seçicilik kazandırılmış selektif besiyerleri kullanılmaktadır. Kullanılan bu selektif besiyerleri dışkı florasını oluşturan diğer bakteriyel etkenlerin üremesini inhibe ederken istenilen Kampilobakterlerin üremesine olanak sağlamaktadır (Koneman ve ark. 2006).

**Tablo 5.** Kampilobakterlerin kültürel analizi için kullanılan selektif besiyerleri ve içerikleri (Winn ve ark. 2006).

Besiyerinin adı	Temel besiyeri	Katkı Maddeleri	Kaynak
<b>Skirrow’un kanlı agar besiyeri</b>	Blood agar base (Temel kanlı Agar) No. 2	At kanı (%7), Vankomisin(10 mg/lt) Polimiksin B (2,500 IU/lt) Trimetoprim (5 mg/lt)	Bolton 1983
<b>Karkoalbazlı selektif besiyeri (Kansız-Karkoalli)</b>	Columbia agar base	Hematin (0,032 g/lt) Sodyum piruvat (0. 1 g/lt) Vankomisin (20 mg/lt) Sefaperazon (32 mg/lt) Sikloheksimid (100 mg/lt)	Fitzgerald ve ark. 2009
<b>Preston (%7 defibrine at kanı)</b>	Nutrien buyyon No. 2	Sefoperazon (32 mg/lt) Amfoterisin (2 mg/lt) Campylobacter growth supplement	Fitzgerald ve ark. 2009
<b>Blaser’in besiyeri (Campy-BAP)</b>	Brucella agar base	Vankomisin (10 mg/lt) Trimetoprim (5 mg/lt) Polimiksin B (2,500 IU/lt) Sefalotin (15 mg/lt) Amfoterisin B ( 2 mg/lt)	Fitzgerald ve ark. 2009
<b>Preston (%5 defibrine at kanı + Saponinli)</b>	Nutrien buyyon # 2 % 1,2 New Zealand agar	Trimetoprim (10 µg/ml) Polimiksin B (5 IU/ml) Rifampin (10 µg/ml) Sikloheksimid (100µg/ml)	Bolton ve Robertson 1982
<b>Bolton Broth</b>		Et peptonu 10,0 g/L, Hemin 0,01 g/L Laktalbumin hidrolizat 5,0 g/L Maya ekstraktı 5,0 g/L, NaCl 5,0 g/L, Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,6 g/L a-ketoglutarikasit 1,0 g/L, Sodyum piruvat 0,5 g/L	Anon 1995

Kan, kömür, demir, sülfat, kazein (özellikle *C. lari* için), sodyum purivat, sodyum metabisülfid, hematin, hemin gibi maddeler oksijenin kampilobakter türleri üzerine toksik etkilerini azaltmak ve metabolizmalarını desteklemek için besiyerlerine ilave edilebilmektedir (Koneman ve ark. 2006). Metabolik faaliyetlerini hızlandıracak ve optimum üremesini sağlayacak protein, defibrine at, insan veya koyun kanı, B vitamini kompleksleri ve çeşitli supplement ilaveli zenginleştirilmiş veya selektif besiyerleri kullanılmaktadır (Hutchinson ve Bolton 1984). Selektif besiyerlerine bağırsak florasını baskılayan ve Kampilobakterlerin dirençli oldukları dolayısıyla üremeleri üzerine olumsuz etkileri olmayan Basitrasin, Kolistin, Novobiyosin, Sefalotin, Vankomisin, Trimetoprim, Polimiksin B, Amfoterisin B, Rifampin, Sikloheksimid ve Sefoperazon gibi antibiyotikler ilave edilebilmektedir (Koneman ve ark. 2006).

Kampilobakter türleri, nem oranı düşük besiyerlerinde 1-2 mm çapında, konveks, parlak, düzgün kenarlı, gri merkezi koloniler oluştururlar. Nem oranı yüksek besiyerlerinde ise düzgün kenarlı olmayan, basık, yaygın, grimsi ve çapı 10' mm kadar ulaşan koloniler oluşturmaktadır (Resim 1) (Nachamkin ve ark. 1999). Kampilobakterler kolonileri genellikle pigment içermezler ve kanlı agarda hemoliz ve koku oluşturmazlar (Arimi ve ark. 1990).



**Resim 1.** Termofilik Kampilobakter türlerinin mCCDA besiyerindeki farklı koloni morfolojisi.

→ Düğmeli, → yuvarlak ve → yaygın koloni morfolojileri görülmektedir.

Tablo 6 'da gösterildiği gibi CCDA besiyerlerinde Kampilobakter türleri arasında farklı koloni morfolojilerine rastlamak mümkündür (İzgür 2006). *C. fetus*'un küçük (1 mm çapında), yuvarlak, hafif tümsek ve yarı saydam çığ damlası görünümünde kolonileri mevcut iken, *C. mucosalis* kirli sarı renkte koloniler oluşturmaktadır. *C. jejuni*, düzgün, gri renkte, büyük ve sulu görümlü koloniler oluştururken, *C. coli* ise pembe-taba renkli kolonilere sahiptir (Quin ve ark. 2002).

**Tablo 6.** Bazı kampilobakter türlerin koloni morfolojileri (Songer ve Post 2005).

<b>Türler</b>	<b>Koloni Morfolojisi</b>
<i>C. coli</i>	Yuvarlak, kabarık, konveks, S tipi, parlak, beyaz-taba renkli 1-2 mm çapında non-hemolitik koloniler, Nemli agarda ekim çizgisi yönünde yayılan basık, düzgün, gri koloniler
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	1 mm çapında, renksiz-krem renkli S tipi koloniler
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	1-2 mm çapında, yuvarlak, granüler, mat, beyaz, krem ya da taba renkli, basık, düz, gri-bronz, yarı şeffaf, düzensiz kenarlı, ekim çizgisi hattı boyunca yayılan R tipi koloniler
<i>C. hyointestinalis</i>	İnkübasyonun 48. saatinde 2 mm çapında, yuvarlak, konveks, hafif mukoid, sarımsı koloniler
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	Basık, düz, grimsi, ince granüler, yarı şeffaf, yuvarlak, kenarlı düzensiz, kabarık, konveks, S tipi, parlak, 1-2 mm çapında, mat merkezli, kenarı parçalanmış
<i>C. mucosalis</i>	1.5 mm çapında, yuvarlak, kabarık, düzgün, kirli sarı renkli; nemli agar üzerinde dairesel yayılabilir koloniler
<i>C. spurotum subsp. bubulus</i>	<i>C. mucosalis</i> 'e benzer fakat sarı pigment oluşturmayan koloniler
<i>C. spurotum biovarfecalis</i>	3.5 mm çapında, parlak, konveks, yuvarlak, kenarları parçalanmamış S tipi koloniler
<i>C. upsaliensis</i>	48 saat inkübasyon sonrası küçük, non-hemolitik ve nemli agarda dairesel yayılma gösteren koloniler

### 2.3.4. Genetik Özellikleri

Kampilobakterler diğer bakterilerle karşılaştırıldığında daha küçük bir genomu sahip olduğu görülmüştür. *C. jejuni*'nin ortalama 1.709 mb'lik boyuta sahipken, *C. coli* 1.703 Mb olarak belirlenmiştir (Poly ve ark. 2005). Ayrıca termofilik Kampilobakterlerin DNA guanin ve sitozin (G+C) oranları diğer kampilobakterlerden ve birbirlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. *C. jejuni*'nin G+C oranı ortalama %31 mol, *C. coli* %32,6 - 34 mol ve *C. lari* için %32,1 mol olduğu belirtilmiştir (Shane 1992).

Kampilobakter genomunda, lateral gen transferinin meydana geldiği ve homolog yeni genotipler oluşturulması ile genomun dinamik bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir (Ketley ve Konkel 2005). Kampilobakterler arasında plazmid veya bakteriyofajlar ile gen aktarımının gerçekleştiği ve *C.jejuni* klinik izolatlarının %19 ile 56'sı çeşitli boyutlarda plazmidlerin varlığı belirtilmiştir (Schmidt ve ark. 2005).

### 2.4. Kampilobakter Türlerinin Olumsuz Koşullardaki Davranışları

Kampilobakter türleri besin yetersizliği, yüksek ya da düşük ısı, aerobik ortam, kültürün eskimesi ve ortamda değişik antibiyotiklerin bulunması durumlarında canlılıklarını olumsuz etkileyen bazı davranışlar gösterirler. Bunlardan bazıları, canlı fakat kültüre edilemeyen (Viable But Non Culturable, VBNC) bakteri formuna dönüşme, biyofilm oluşturma ve kokoid forma dönüşme gibi davranışlardır (Cappelier ve Federighi 1998).

#### 2.4.1.VBNC Forma Dönüşme

Canlı fakat kültüre edilemeyen bakteri formu (VBNC) olarak adlandırılan bu form bakterinin üreme koşullarının zayıf olduğu ortamlarda hayatta kalmasını arttıran bir özellik olarak düşünülmektedir (Cappelier ve Federighi 1998, Thomas ve ark. 2002). VBNC formuna dönüşüm ile ilgili ilk tanımlama Rollins ve Colwell (1986) tarafından *C. jejuni* için yapılmıştır (Rollins ve Colwell 1986). Son yapılan çalışmalar, her zaman kültürde tespit edilemese de VBNC formlarının bakteri virulens genlerini taşıdığını ve bu yönüyle infeksiyon riskini göstermektedir (Chaisowwong ve ark. 2012). Kültür ortamında Kampilobakterlerin tamamı VBNC

formuna dönüşmüşse sonraki pasajlarında üretilmelerinin çok zor olduğu bilinmektedir. Çevreye adaptasyonu sağlayan VBNC formuna dönüşüm *C. coli*'ye oranla *C. jejuni*'de daha hızlıdır. Ayrıca *C. jejuni*'nin VBNC formundan tekrar kültüre edilebildiği, patojenitesini ve adezyon özelliğini yeniden kazandığı deneysel olarak gösterilmiştir (Cappelier ve ark. 1999). Thomas ve ark. 2002 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, su sıcaklığının 20 °C ve üzeri olduğu ortamlarda bakteri popülasyonunun hızlı bir şekilde azaldığı, 10 °C olduğu ortamlarda ise canlı kaldıkları fakat VBNC forma dönüştükleri bildirilmiştir (Thomas ve ark. 2002).

#### 2.4.2. Biofilm Oluşturma

Biyofilmler, mikroorganizmaların canlı ya da cansız yüzeylere tutunarak, kendi ürettikleri polimerik madde içerisinde korunaklı bir şekilde kalabilmesini sağlayan yapılardır. Buswell ve ark. (1998)'nin yapmış oldukları bir araştırmada, *Kampilobakter* türlerinin sulu ortamlarda, paslanmaz çelikte ve cam üzerinde oluşturdukları bu yapılar sayesinde canlı kalabildiklerini bildirmişlerdir (Buswell ve ark. 1998). Ayrıca bu türlerinin antibiyotik, dezenfektan, ısı, normal atmosfer koşulları ve oksijenin toksik etkisi gibi olumsuz etkilerine karşı biofilm oluşturarak korundukları bildirilmiştir (Murphy ve ark. 2003, Sails ve ark. 2002). Kesimhanelerdeki çapraz kontaminasyona neden olan *C. jejuni*'nin biofilm oluşturmasından kaynaklanabilecek bir başka çalışma daha bildirilmiştir (Cloak ve ark. 2001).

#### 2.4.3. Kokoid Forma Dönüşme

*Kampilobakter*ler kokoid forma geçerken protoplazma büzülür ve flagellalar fragmentler içerisine girerek konkav bir yapı oluştururlar *Kampilobakter* türlerinin kokoid forma dönüşmelerinde flagella bulunduğu halde hareket edememelerinin sebebi olarak yeterli enerji üretmedikleri ve metabolik faaliyetlerin en az düzeyde olması gösterilmektedir (Moore 2001). Bakterinin bu hareketsiz uyku hali, çevre şartlarına direncini artırmakta ve canlılığını tamamen yitirmeden kokoid formda dinlenme fazında kaldığı belirtilmiştir. Ayrıca kokoid formda selektif besiyerinde üremese dahi infeksiyon oluşturabilme yetenekleri olduğuda bildirilmiştir ( Jones ve ark. 1991).



## 2.5. Kampilobakter Türlerinin Stres Tolerans Mekanizmaları

### 2.5.1. Yüksek Sıcaklık

Termofilik Kampilobakterler gelişimleri için yüksek sıcaklığa gereksinim duymalarına rağmen genelde ısıya duyarlıdırlar (Waterman 1982). *C. jejuni*'de 24 farklı ısı şoku proteini sentezlenmektedir (Konkel ve ark. 1998). Bu proteinler bakterinin optimum sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda canlı kalmalarında yardımcı olurlar. *C. jejuni* 55° C 'de 1 dakikalık ısı işlem sonucunda 1 destinal azalma görülürken (Waterman 1982); *C. coli*'de 48,8 – 55,1 °C aralığında azalma logaritmik bir şekilde meydana gelirken daha yüksek ısılarda azalma daha hızlı bir şekilde gerçekleşir (Moore ve Madden 2000).

### 2.5.2. Düşük Sıcaklık

Kampilobakterlerin ortam sıcaklıklarının optimum seviyenin birkaç derece altına düşmesi veya üstüne çıkması durumunda gelişimlerinde hızlı bir azalma meydana gelmektedir. Kampilobakterler 30° C'nin altında gelişemezler, ancak canlılıklarını uzun süre muhafaza edebilirler (Park 2002). +4° C'de ise metabolik faaliyetlerini sürdürebilirler (Hazeleger ve ark. 1998). Termofilik kampilobakterlerde ısı şoku proteinleri bulunmasına rağmen, soğuk şok proteinlerini kodlayan gen bulunmamaktadır (Parkhill ve ark. 2000).

### 2.5.3. Asit Stresi

Kampilobakterlerin optimum Ph aralığı 5,5 – 8,0 olmakla birlikte termofilik türlerde 6,5 – 7,5 aralığındadır (Dolye ve Roman, 1981). *C. jejuni* ve *C. coli* Ph 4' te sadece iki saat canlılıklarını sürdürebilirler (Chaveerach ve ark. 2003). Kampilobakterlerin asit stresi koşullarında hücrede protein sentezi artmaktadır. Ayrıca protein sentezi sırasında farklı proteinler üretilmekte ve bu proteinler tamir, biyosentez ve modifikasyonda rol oynadığı düşünülmektedir (Murph ve ark. 2006).

### 2.5.4. Aerobik Ortam

Kampilobakterler mikroaerofilik olup, oksidatif stresle mücadele etmek ve oksijen metabolizmasının toksik bileşiklerinden korunmaları gerekmektedir (Murphy

ve ark. 2006). Aerobik şartlarda bakteri canlılığını sürdürebilmek için O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve OH gibi reaktifleri uzaklaştırması gerekmektedir. Çünkü bu reaktif ürünler DNA, protein ve lipitlerde hasar oluşturabilmektedir (Park 2002). Ancak *Kampilobakter* türlerinde bu reaktif bileşikler uzaklaştırılacak mekanizma tam açıklanamamakla birlikte bu bileşiklerin inaktivasyonundan sorumlu oldukları düşünülen SodB, katalaz ve akil hidroksiperoksit redüktaz proteini bulunmaktadır (Park 2002, Murphy ve ark. 2006).

### 2.5.5. Ultraviyole (UV) ve Osmatik Stres

*Kampilobakter*ler sıklıkla karşılaştıkları streslerden biride güneş ışında bulunan UV radyasyonudur. *Kampilobakter* türlerin UV ışınlarına oldukça duyarlı bir yapı sergileyerek ve inaktive olabildiği belirtilmiştir (Butler ve ark. 1987). Bu olumsuz koşullardan korunmak için ise genel stres cevap mekanizmasında rol oynayan DNA'nın zarar görmesini engelleyen RecA proteini sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Murphy ve ark. 2006). *Kampilobakter*ler osmatik basıncı dengeleyecek çözünür madde sentezleyemediklerinden osmatik strese oldukça duyarlıdır (Stirling ve ark.1989).

### 2.6. *Kampilobakter* Türlerinin Patogenez ve Virülens Faktörleri

*Kampilobakter* infeksiyonları fekal oral yolla bulaşır. Enterik mikroorganizmalar olarak *Campylobacter spp.* ince bağırsakta olduğu gibi konak midesinin (taşlık) zorlu koşullarında hayatta kalabilirler ve sonunda konağın fekal ve kloakal bölgelerine kolonize olarak bağırsaklara ulaşmış olurlar (Sahin ve ark. 2003a). Ayrıca *kampilobakter*ler kanatlılarda ince bağırsaklarda ve taşlıkta, nadiren karaciğer, dalak, kan ve safra kesesinde de bulunabilirler (Sanyal ve ark. 1984).

Kanatlılarda kolonizasyonu ile ilgili olarak *kampilobakter*lerin doğrudan bağırsak epitel hücrelerine yapışmadığı, ancak esas olarak bağırsak mukozasında buldukları görülmektedir (Meinersmann ve ark. 1991). İnfeksiyonda genellikle büyük veya mikroskobik lezyonlar oluşmaz. Bağırsak epitelinde ve iç organlarda kolonizasyon nadiren meydana gelse bile, klinik hastalık belirtileri görülmez (Knudsen ve ark. 2006). Enfekte bir kanatlıda sekumda çok sayıda mikroorganizma (10<sup>9</sup> cfu/g) saptanabilir ve bu etkenlerin dışkı ile atılımı uzun sürebilir (Sahin ve ark.

2003a). Kampilobakterlerin insanlarda infeksiyona neden olmaları için en az  $10^4$  yoğunlukta olmaları gerekir. Bakteri gıda ile alınmış fakat tam olarak sindirilmemişse ya da bireye mide asidini azaltacak bir tedavi uygulanmışsa infeksiyon oluşturacak bu bakteri sayısı 500 hatta daha az bile olabilir (Herman ve ark. 2003).

Kampilobakterler tarafından oluşturulan enteritisin patogenezinde; motilite ve kemotaksis, adezyon, invazyon, toksinler, demir kullanımı, lipoolisakkarit (LOS), lipopolisakkarit (LPS) gibi virülens faktörleri önemli rol oynar. Bu faktörlerin farklı kombinasyonu ile farklı patojenite mekanizmaları gelişmektedir. Kampilobakterler bu patojenite mekanizmaları ile hayatta kalarak hastalıklara sebep olurlar (Mansfield ve ark. 2000).

### 2.6.1. Motilite ve Kemotaksis

Kampilobakter türlerinin sindirim sistemindeki kolonizasyonunda kemotaksis ve motilite başlıca virülens özelliklerdir. Kampilobakter türlerinde hareket, polar flagellaların tirbüşon tarzı hareketi ile gerçekleşmektedir. Mukus tabakasının yapışkan özelliği bu hareketi kolaylaştırır (Szymanski ve ark. 1995). Kolonizasyonda flagellanın yapısı ve hareketliliği önemlidir. Flagellası olmayan kampilobakter mutantları kolonize olmalarına rağmen flagellalı türlere göre daha düşük seviyededir (Mansfield ve ark. 2000). Kolonizasyonda flagellin A proteini üreten türler, flagellin B proteinini üreten türlere göre daha hareketli olduğu gözlenmiştir (Wassenaar ve ark. 1993). *C. jejuni*'nin virulensi ile ilişkili *FlaA* ve *rpoN* biyosentez genleridir (Fernando ve ark. 2007).

Kampilobakter türleri kemotaksis ile bağırsaklara tutunarak kolonize olurlar. Bu türlerde kemotaksis üzerine yapılan çalışmalarda müsin tabakasının komponentleri (müsin, L-serin, L-fukoz), aminoasitler ve CheY, CheV, CetA, CetB gibi kemotaktik maddelerin olduğu gastrointestinal sistem bölgelerinde Kampilobakterlerin daha yoğun kolonize oldukları görülmüştür (Hugdahl ve ark. 1998). *C. jejuni* için müsin-2 (MUC2) oldukça yoğun bir kemotaktik madde olup bakterilerin bu maddeye bağlandığı bildirilmiştir (Joens ve ark. 2010). Bu doğrultuda yapılan başka bir çalışmada ise safra asidinin negatif kemotaktik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Moore ve ark. 2005).

### 2.6.2. Adezyon

Kampilobakterler kemotaksis ile mukusu geçip epitel yüzeye bağlanarak kolonize olmaktadır. En önemli adezyon yani bağlanma molekülü ise 'Faringeal güçlendirici bağlanma -1' (PEB1) proteindir. Bu protein aynı zamanda bakterinin yüzeysel antijenidir. Bu protein immun yanıtta sorumlu olduğundan aşı geliştirme çalışmalarında da kullanılmıştır (Blaser ve ark. 2005). *C. jejuni*'nin *peb1A* mutantlarının varlığında bağırsak kolonizasyon süresi azaldığı görülmüştür (Pei ve ark. 1998). Ayrıca adezyonda dış membran proteini (Outer Membran Protein, *OMP*), lipopolisakkarit, kapsüler oligosakkarit, *porA*, fibronektin bağlanma proteini (*CadF*), *Jejuni* yüzey lipoprotein A (*JlpA*) ve *CapA*-*CapB* gibi birçok protein rol almaktadır (Astorga ve ark. 2010). *CapA* hücre dışına salınan proteinlerin ototransporter ailesinin bir üyesidir. *porA* geni dış membrana yapısal stabilite kazandırır ve *porA* mutasyonu ölümcül etki yaratabilir (Pei ve ark. 1998). *C. jejuni*'nin *JlpA* mutantlarında saha çalışmalarında adezyon yeteneğinin %18 -19,4 oranında azaldığı görülmüştür (Bacon ve ark. 2002). Kampilobakter enteritlerinin patogenezinde flagella yapıları da önemli virülens faktörlerindedir. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada epitel hücrelere ve mukus tabakasına bağlanabilirliği önceden bilinen Kampilobakter türlerinden flagellalı olanların bağlanma kabiliyetinin daha iyi olduğu, flagellası kısaltılmış olanların bağlanabilme yeteneğinin daha az olduğu ve flagellası hareketsiz olan suşların ise bağlanamadığı görülmüştür (Mcsweegan ve ark. 1986).

### 2.6.3. İnvazyon

Kampilobakter türlerin kolonizasyonu ve konak hücreye invazyonu için *Cia* proteinleri (*Campylobacter* istila antijenleri) önemli bir faktördür. Konakçı hücreye flagella aracılığı ile giren kampilobakter türlerinin invazyonu, *Cia* proteinlerinin Tip3 sekresyon sistemi (T3SS) ile salınımıyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Konkel ve ark. 2004). Konakçı hücreye alınan Kampilobakter türleri *Cia* proteinlerini sentezler. Sentezlenen *Cia* proteinleri konakçı hücre sitoplazmasına salınır ve bakteri 72 saatten fazla kalarak çoğalmaya devam eder. Hücre içinde bulunan kampilobakter sayısının artması epitel hücrenin lizisine ve daha alt dokulara geçmesine sebep olur. Bakterinin derin dokularda ve diğer organlara yayılmasında yangı hücreleri rol

oyunar. Kampilobakter türlerinin sahip oldukları özellikleri ve antijene karşı direnci, konakta canlı kalmasında ve yayılımında önemlidir (Joens ve ark. 2010). *pVir*'in plazmidi Kampilobakterlerin in vitro ortamda adezyon ve invazyon yeteneğinden sorumlu olup in vivo olarak da bakterinin virülensini arttırdığı bildirilmiştir (Bacon ve ark. 2002). *RacR* ve *dnaJ* genleri bakterinin kolonizasyonundan sorumludur. Ayrıca bu genler bağırsaktaki ısı farkları gibi zorlu şartlarla başa çıkmak için salgılanmaktadır (Ziprin ve ark. 2001). *VirB11* ve *PldA* genleri ise bakterinin dış membran fosfolipazların sentezine katılan ve invazyondan sorumlu olan yapılardır (Da ve ark. 2012). *WlaN* ve *cgtB* genleri Guillain –Barre Sendromunda rol oynarken (Khoshbakht ve ark. 2013), *iam* geni de invazyondan sorumlu diğer önemli bir virülens faktördür (Carvalho ve ark. 2001).

#### 2.6.4. Toksinler

Kampilobakterler dış membran üzerindeki veziküllerden, üremeleri esnasında lipopolisakkarit yapısından endotoksin üretirler. Kampilobakter türleri tarafından üretilen ve en iyi bilinen toksin ‘Sitoletal şişkin toksin’ (CDT) toksinidir. Bu toksin diğer bazı Gram negatif bakteriler arasında da görülmüştür. CDT toksinin üç aktif proteini vardır. *CdtA* ve *CdtC* proteinleri toksinin hedef hücreye bağlanmasını, *CdtB* proteini ise toksinin hedef hücreye enzimatik olarak verilmesini sağlamaktadır (Bolton 2015). CDT toksini konak hücrenin yaşam döngüsünü durdurur, hücreyi yavaşça şişirir ve hücre ölümüne yol açar (Bang ve ark. 2003). CDT toksisitesi dört aşamada gerçekleşmektedir. Birinci aşamada kampilobakter türleri, hareket özellikleri sayesinde konağın epitel hücrelerinin mukus tabasını geçerek *CdtA* ve *CdtC* sayesinde hücreye tutunurlar. İkinci aşamada hücre içine girerek çoğalırlar. Üçüncü aşamada bakteri tarafından salgılanan *DNaz* özelliğindeki *CdtB* konakçı hücrelerin gelişimini inhibe eder. Son olarak hücreler arası bağlantı sağlayarak invazyon sağlarlar (Crushell ve ark. 2004).

Vero ve HeLa hücrelerine etkili toksinler, *Shiga*-benzeri toksin, hemolitik aktive gösteren toksin ve hepatotoksin kampilobakterlerin diğer önemli toksinleridir (Wassenaar 1997). Bunlardan ayrı olarak kampilobakterlerde, Sitoletal yuvarlanma toksin (CLRT) tespit edildiği ve bu toksinin ishalin şiddetinde rol oynadığı belirlenmiştir (Lee ve ark. 2000).

### 2.6.5. Demir Kullanımı

Canlı mikroorganizmalar ve infeksiyon esnasında patojen bakteriler için demir esansiyel bir elementtir. Kampilobakter türleri küçük moleküler ağırlıklarından dolayı demir bağlayıcı bileşikler olan sideforları üretemezler. Ancak ekzojen sideforları kullanabilme yetenekleri vardır. Kampilobakter türleri invazyon sırasında bağırsaklardaki sideforları yakalayan *ceuE* geni tarafından kodlanan demir transport sistemine sahiptir (Field ve ark. 1986). Ayrıca *cft* geni tarafından üretilen ferritin, demir depolama kaynağı olup *C. jejuni* tarafından üretilmektedir (Ketley 1997).

### 2.6.6. Lipoolisakkarit (LOS) ve Lipopolisakkarit (LPS)

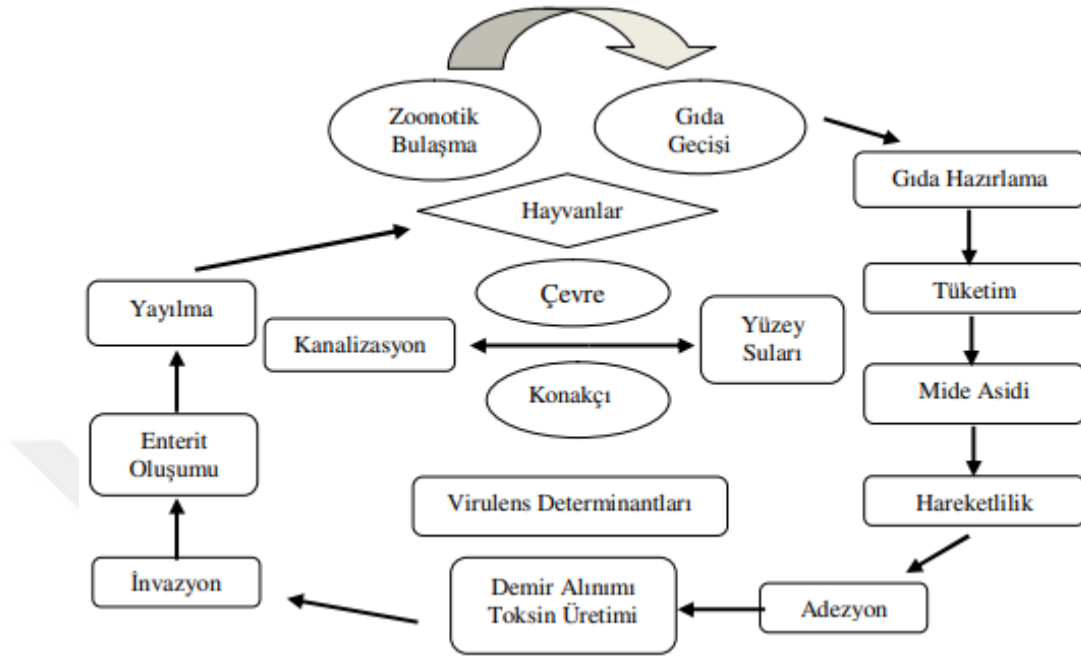
Gram negatif bakterilerde olduğu gibi Kampilobakter türlerinin hücre duvarı LOS ve LPS yapıya sahiptir. Bu iki yapı bazılarında ayrı ayrı bulunurken bazı bakterilerde beraber de bulunabilirler (Aspinall ve ark. 1994).

Kampilobakter türlerindeki LPS tabakasındaki lipit A komponentleri endotoksik özelliktedir (Wassenaar ve Blaser 1999). LPS aynı zamanda bakterinin hayatta kalması ve kolonizasyonu ile ilgilidir (Roberts 1996). LPS bulunmayan mutantlar, insan serumuna karşı daha az direnç gösterir ve daha az kolonizasyon yeteneği göstermişlerdir (Bolton 2015).

LOS yapıları, Gram negatif hücre duvarında yer alan başlıca glikolipitlerdir. Bu yapıların LPS'den farkı O-polisakkarit zincirine sahip olamamalarıdır. Bundan dolayı da LOS yapıları hidrofobiktir ve safra ile çözülmeye oldukça duyarlıdır (Preston ve ark. 1996). Ayrıca LOS yapıları geniş bir çeşitliliğe sahip olup kampilobakter türlerinin LOS biyosentezinden geniş bir gen varyasyonu sorumludur (Nachamkin ve ark. 2008). Ayrıca bu yapılar bakteriye konakçı hücreye tutunma ve kolonize olma kabiliyeti kazandırır. Sialik asit sentezinin indüklendiği LOS'lu kampilobakter türleri daha yüksek bir istila potansiyeline sahip olduğu ve Guillain Barre Sendromu'nun patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Louwen ve ark. 2008).

Kampilobakter türleri konakçıya kontamine hayvanlarla temas, kontamine yiyeceklerin tüketimi, kontamine yüzey suları ve gıdaların hazırlanması esnasındaki çapraz kontaminasyonla bulaşmaktadır (Altekruse ve ark. 1999, Skirrow 1991).

Bulaş sonrası enfeksiyona neden virülens faktörleri ve bu faktörlerin gıda, hayvan ve çevredeki yaşam döngüsü Şekil 1 'de verilmiştir (Altekruse ve Tollefson 2003).



**Şekil 1.** Kampilobakterlerin gıda, hayvan ve çevredeki yaşam döngüsü (Altekruse ve Tollefson 2003).

## 2.7. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Epidemiyolojisi

### 2.7.1 Salgınlar ve Salgın Türleri

İnsanlarda Kampilobakter vakalarının %95'ten fazlası sporadik veya endemik olarak meydana gelmektedir (Blaser 1997). Bazı vaka kontrol çalışmaları sonucu, endemik veya sporadik vakaların %50-70'inin kanatlı hayvan etlerinin uygun olmayan şekilde pişirilerek tüketilmesi veya bu etlerle temas sonucu meydana geldiği bildirilmiştir (Blaser 1997, Friedman ve ark. 2004). Ayrıca pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi (Hopkins 1984), artılmamış kontamine su tüketimi (Fullerton ve ark. 2004), enfekte ve evcil hayvanlarla dolaylı veya direk temas (Friedman ve ark. 2004), mezbahane işçiliği (Cawthraw ve ark. 2000) ve enfekte insanlarla seyahat etmek (Blaser 1997) enfeksiyon riskinin artırmaktadır. Ayrıca Avrupa, Afrika, Asya, Güney Amerika, Kanarya Adaları, Hawaii gibi sıcak bölgelere seyahat eden insanlarda Kampilobakter gastroenterit vakalarında artışla sonuçlanmaktadır (Communicable Disease Surveillance Centre 1978).

Termofilik Kampilobakterlerin enterositlere affinitesi yüksek fakat infeksi dozları düşüktür. Bu nedenle salgınları nadir görülmektedir. Bunun nedeni ise Kampilobakterlerin ultraviyole radyasyona, kuruma, oksijen ve ısı gibi faktörlere karşı hassas bir yapılarının olmasıdır (Baylis ve ark. 2000). İnsanlarda salgınların en büyük nedeni olarak kontamine kümes hayvanı etlerinin tüketimi olarak gözükmeye rağmen pastörize edilmemiş süt ve kontamine su tüketimine bağlı salgınlar da bildirilmiştir (Blaser 1997).

Son zamanlarda birkaç Kampilobakter salgınının, yabani kuşların bezelye tarlalarını dışkıları ile kontamine etmesiyle, vahşi yaşam rehabilitasyon merkezinde rakunla ve evcil hayvan satan bir dükkânda köpeklerle ve bu hayvanların dışkıları ile teması sonucu meydana geldiği bildirilmiştir (Saunders ve ark. 2017).

Kampilobakter salgınları, surveyans programlarının ve metodolojisinin eksik veya tutarsız uygulanmalarına ek olarak salgınların küçük yerlerde göz ardı edilmiş ve yaygın olduğu yerlerde yetersiz tespit edilmelerinden kaynaklı olarak önemli ölçüde eksik bildirilmiştir. Ayrıca, Kampilobakterlerin her yerde bulunan doğası, düşük bulaşıcılık dozu, çapraz kontaminasyonun meydana getirme kolaylığı, birden fazla alt tiple kontaminasyon olasılığı ve nispeten uzun inkübasyon süresi farklı kontaminasyon kaynaklarının belirlemesini zorlaştırdığı belirtilmektedir (Ethelberg ve ark. 2004).

### 2.7.2. Mevsimsel Analizler

Termofilik Kampilobakter infeksiyonları ılıman ülkelerde ilkbahar ve yaz aylarında önemli bir artış gösterirken sonbahar ve kış aylarında kademeli olarak düşüşe geçmektedir (Miller ve ark. 2004). Bazı ülkelerde ise infeksiyonun artışı yaz aylarında yapılan seyahatlere bağlı olarak artış göstermiştir (Ekdahl ve Andersson 2004). Yapılan bir çalışmada *C. jejuni*'nin deniz aşırı seyahatlerde meydana gelen gastrointestinal infeksiyonların %70'inden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (Swaminathan ve ark. 2009). Kanada'da 2005 -2009 yılları arasında seyahatle ilişkili olarak 446 vakanın 123 (%26,7)'ünün kampilobakteriyosiz kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Ravel ve ark. 2011). Yine Amerika Birleşik Devletleri'nde Kampilobakter infeksiyonlarının %18'inin seyahatlerle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Ricotta ve ark. 2014). Avrupa'da yurtiçi seyahatlerde Kampilobakter türlerinin neden olduğu



ishal vakalarının 2008’de %7 ve 2010’da %2 oranında artış gösterdiği görülmüştür (Gautret ve ark. 2012).

Kampilobakter infeksiyonlarının sıklığını birden fazla etkenin bulunması oldukça karmaşık hale getirmektedir ve neyin yönlendirdiği tam olarak bilinmemektedir. Çevresel koşullar arasında sayılan mevsimsel değişimler, vahşi hayvanların davranışları, göçmen kuşların davranışları, patojenin bilinen rezervuarın ve insanların sosyalleşme davranışları Kampilobakterlerin bulaşma dinamiklerini değiştirebilir (Olson ve ark. 2008). Yaz aylarında çiftliklerde, kesim esnasında ve perakende satış da dâhil olmak üzere çeşitli üretim aşamalarında test edilen kümes hayvanlarının infeksiyon riski taşıma oranlarının en yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca enfekte broiler sürülerinde infeksiyonun yaz aylarında zirve yaptığı belirtilmiştir (Meldrum ve ark. 2005). Kanatlı hayvanların yanı sıra kuzu, sığır ve kanalizasyon izolatlarında mevsimsel zirvelerin, insan infeksiyonlarının zirvesinden bir ila iki ay önce meydana geldiği ve bu durum insanlarda kampilobakteriyozun mevsimsel döngüsüyle ilişkili olabileceğini göstermiştir (Stanley ve ark. 1998).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada 140 kanatlı dışkı örneği incelenmiş ve %73 (102) oranında *Campylobacter spp.* pozitifliği elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada mevsimsel olarak kış mevsiminde %6, ilkbaharda %19, yaz mevsiminde %40 ve sonbaharda %8 olmak üzere *Campylobacter spp.* oranlarına ait farklı değerler bildirilmiştir (Es-soucratti ve ark. 2020). Fransa’da kampilobakteriosiz vakaları haziran, temmuz ve ağustos ayında %47 ile en yüksek seviyede tespit edilmiştir (Trompette ve ark. 2019). Yapılan başka bir çalışmada, sularda mevsimsel olarak sonbaharda %55 (40/22), kışın %39 (23/9), ilkbaharda %25 (16/4) ve yazın %30 (20/6) oranında kampilobakter izole edilmiştir (Carter ve ark. 1987). Kayman ve ark. 2013 yılında 3287 insan dışkı örneğinden 179 termofilik Kampilobakter tespit etmiş ve vakaların en sık havaların ısınmasıyla ilkbaharda artmaya başladığı, yaz ve kış aylarında devam ettiğini belirtmiştir (Kayman ve ark. 2013).

### 2.7.3. İnfeksiyon Kaynakları ve Bulaş Yolları

Kampilobakterler kanatlı, domuz, sığır, köpek ve kedi gibi birçok vahşi ve evcil hayvanların gastrointestinal sistemlerinde hiçbir infeksiyon belirtisi göstermeden yaşayabilmektedir (Park 2002). İnsan ve hayvanlarda sporadik

olgularda infeksiyon kaynağı olarak kanatlılar önemli bir yer tutmaktadır (Collins ve ark. 2004). Kampilobakterlerin optimum üreme ısıları 42° C 'dir. Bu ısının kanatlı hayvanların vücut sıcaklıklarına karşılık gelmesi etkenin bağırsak sistemlerine adaptasyonu kolaylaştırmaktadır (Park 2002). Termofilik Kampilobakter türlerinden *C. jejuni* ve *C. coli*' nin rezervuarları arasında kanatlı hayvanlardan tavuk, hindi, ördek ve kazlar ilk sırada yer alırken (Colles ve ark. 2011), bu hayvanlar *C. lari* ve *C. upsaliensis* için de önemli rezervuarlardır (Kaakoush ve ark. 2014). Kediler, köpekler ve kuşlar dâhil olmak üzere evcil hayvanlarda hassas doğalarına rağmen laboratuvar ortamlarında izole edilebilirler. Ayrıca çevresel sulardan ve topraktan da kolayca izole edilebilirler (Blaser 1997).

Termofilik Kampilobakterlerin bulaşma yollarının açıklığa kavuşturulmasının, insan ve hayvan kampilobakteriyozunu hafifletme stratejileri için kritik öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Blaser 1997). Genel anlamda bulaşma, kontamine gıda ve su tüketimi, enfekte veya rezervuar konakçılar ve bu hayvanların dışkılarıyla temas yoluyla gerçekleşmektedir (Humprey ve ark. 2007). Kümes hayvanları, Kampilobakterlerin insanlara gıda ile bulaşında birincil sebep olarak gösterilmektedir (Skirrow 1997). Bu nedenle Kampilobakter türleri kümes hayvanları çiftliklerinde ve toprak, su kaynakları, hava ve bina yüzeyleri dâhil olmak üzere çevrede bol miktarda bulunabilmektedir (Ellis ve ark. 2012).

Moleküler tiplendirme stratejilerindeki son gelişmelerle beraber Kampilobakter etkenlerinin kontaminasyonunun sürekliliğinin ve patojenlerin insanlara ve hayvanlara bulaşmasının bölgesel faktörlere bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir (Taboada ve ark. 2015). Örneğin; yaban hayatı, yabani kuşlar ve evcil hayvanlardan kaynaklanan Kampilobakterlerle ilişkili yakın zamanda açıklanan salgınlar, potansiyel olarak yetersiz temsil edilen kampilobakteriosiz kaynaklarını vurgulamaktadır. Ayrıca insanlarda Kampilobakter türlerinin ve bunun meydana geldiği yerlerde çevresel kaynakların daha fazla gözetim altında tutulması gerekmektedir (Kwan ve ark. 2014).

Gelecekteki Kampilobakter infeksiyonlarının sıklığının azaltılması için uygulanan stratejilerin etkili olabilmesi için, hayvanlar, insanlar ve çevre arasındaki bulaştırma dinamiklerinin iyi analiz edilmesi, Kampilobakter türlerinin ekolojisi

üzerindeki bölgesel etkilerin dikkate alınması ve bu klinik olarak önemli karma konak alt tiplerinin sadece ekolojisini araştırmakla kalmayan daha geniş moleküler epidemiyolojik çalışmalara ve gözetim programlarına yatırım yapılmasına devam edilmesi önemlidir (Buchanan 2018).

#### 2.7.4. Çevresel Sularda Yaygınlığı

Termofilik Kampilobakter türleri yüzey suları (örn: Göletler, göller ve nehirler gibi), yer altı suları, atık sular ve deniz suları dâhil olmak üzere her türlü su kaynaklarından izole edilmiş. Bulaş kaynakları ise çiftlik kanalizasyonu, mezbahane atıkları, evcil hayvanlardan ve vahşi hayattan gelen dışkı kontaminasyonu ve insan kanalizasyonundan oluşmaktadır (Khan ve ark. 2014). Özellikle büyük tarımsal faaliyetlerin gerçekleştiği bölgelerdeki kaynak sularda termofilik Kampilobakter türlerinden *C. jejuni* ve *C. coli* %0-100 arasında izole edilmiştir (Huang ve ark. 2015). Ayrıca bu bölgelerde yaşayan hayvanlardan izole edilen türlerle su kaynaklarından izole edilen türlerin genetik olarak benzer olduğu bildirilmiştir (Jokinen ve ark. 2011). Bu veriler ışığında çevresel suların termofilik Kampilobakter türleri için önemli bir kaynak olduğu, ayrıca yaban hayatı, evcil hayvanlar ve insanlar arasında bulaşa büyük bir role sahip olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, Hollanda Antillerinde yağışlı mevsimlerde kuyu suyunun (Van Dyke ve ark. 2010), Kanada'da içme suyu kaynağı olarak bir nehir suyunun (Khan 2009), besi sığırcılığı, süt sığırcılığı, kümes hayvanları yetiştiriciliği dâhil yoğun tarım alanlarındaki yüzey sularının Kampilobakter türleri ile kirlendiği belirtilmiştir. Türkiye'de Isparta ilinde şebeke suyu kaynaklı 7.800 vaka bildirilmiş 43 hasta Kampilobakter şüpheli görülmüş ve bunlardan 8'i kampilobakteriosiz olarak doğrulanmıştır (Gallanis 2007).

#### 2.7.5. Çevresel Şartlara Dayanıklılığı

Kampilobakter türleri konakçı dışında cansız ortamlarda çoğalamazlar. Isı, nem ve oksijen gibi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı oldukça duyarlı olup canlı kalma süreleri değişkenlik göstermektedir (Tablo 8). *C. jejuni* ve *C. coli*, 55 °C 'de 6 dk canlı kalabildiği, ortam pH'sının 4,5 altında olduğu durumlarda ise canlı kalamadığı bildirilmiştir (Murphy 2003). *C. jejuni*, doğal sularda birkaç hafta canlı

kalabilmektedir. Steril içme suyunda ise 4 °C'de 64 gün kadar yaşabilmektedirler (Cools 2003). Tablo 7'de belirtilen hipokloritler, fenoller ve iyodoforlar gibi bazı dezenfektanlar içerisinde birkaç dakika içinde inaktif hale gelebilmektedirler (Ateş ve ark. 2005).

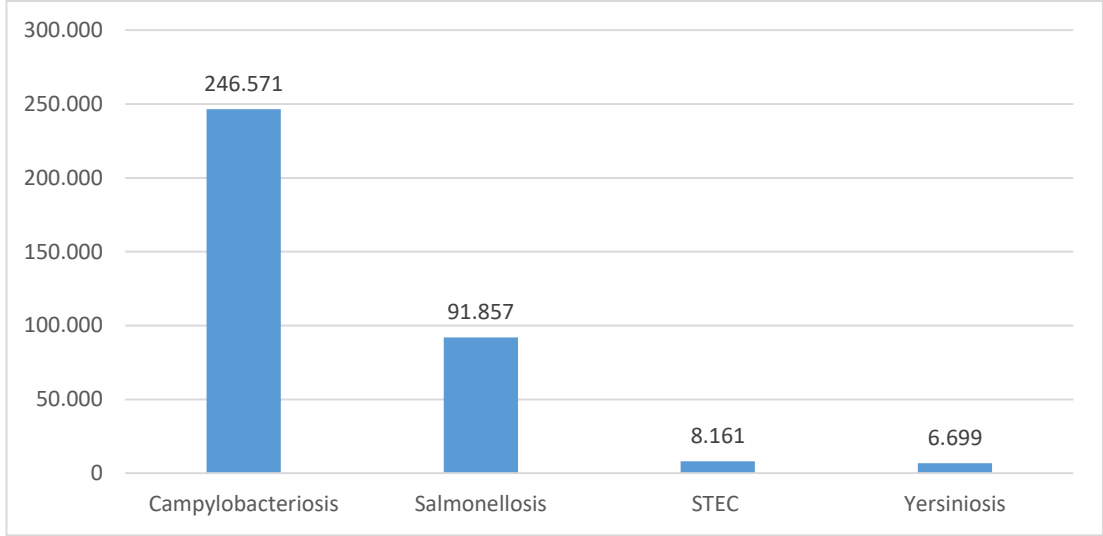
**Tablo 7.** Bazı antiseptik ve dezenfektanların *Kampilobakterler* üzerine etkinlikleri.

Antiseptik/Dezenfektan	Letal doz	Konsantrasyonu	Süre
Hipoklorid	1,25 ppm/lt	104 kob/ml	1 dk
Monokloramine	1 ppm/lt	107 kob/ml	15 dk
Etil alkol	70%	107 kob/ml	1 dk
Formalin	2,50%	107 kob/ml	15 dk

## 2.8. Termofilik *Kampilobakter* Türlerinin İnfeksiyonları ve Prevalansları

### 2.8.1. İnsanlarda *Kampilobakteriyozis* ve Prevalansı

*Kampilobakteriyozis*, hayvanlardan insanlara doğrudan veya dolaylı olarak bulaşabilen zoonotik bir hastalıktır. Dünyada *Kampilobakterler*, insan gastroenteritisinin en yaygın etkeni olarak kabul edilmektedir. *Kampilobakteriyozis* başta olmak üzere gıda kaynaklı hastalıklar yüzünden yıllık 550 milyon insan hastalanmakta ve bunun 220 milyonunu 2 yaş altı çocuklar oluşturmaktadır. *Kampilobakter* infeksiyonlarının klinik seyri genellikle hafiftir, ancak çok küçük çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler arasında ölümcül seyredebilir (WHO 2020). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)'nin 2018 yılındaki raporunda *kampilobakteriyozis* en yaygın zoonoz hastalık olarak belirtilmiştir. Şekil 2'de belirtildiği gibi *kampilobakteriyozisi* takiben salmonellozis, Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) infeksiyonları ve yersiniozis gelmektedir (EFSA 2018).



**Şekil 2.** AB’de 2018 yılında bildirilen zoonoz vaka sayısı (EFSA 2018).

\*STEC: Shiga toksin - E.coli

Termofilik Kampilobakterin prevalansı, popülasyon tipi ve büyüklüğü, mevsim, yaş, örnek türü, örnek miktarı, beslenme koşulları, izolasyon yöntemleri ve coğrafik farklılıklara bağlı olarak ülkeler arasında hatta coğrafik bölgeler arasında önemli farklılıklar göstermektedir (Mills ve ark. 1985).

Kampilobakter cinsi içerisinde birçok patojen tür olmasına rağmen, Kampilobakter enfeksiyonlarının en yaygın etkeni *C. jejuni* olduğu rapor edilmiştir (Fitzgerald 2015). İnsan Kampilobakter izolatlarında %89 *C. jejuni*, %8 *C. coli* ve %3 diğer kampilobakter türleri yer almaktadır (Kendall ve ark. 2012). Türkiye’de 2007 yılında Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı (UEPLA) kurulmuş ve 2008-2011 yılları arasında ise buraya kayıtlı bir üniversite hastanesinde gıda kaynaklı 53 *Campylobacter* spp. enfeksiyonu tanımlanmış ve %66’sı *C. jejuni*, %24,5 *C. coli* ve %5,7’si *C. lari* olarak identifiye edilmiştir (Gülmez ve ark. 2012).

İnsanlarda Kampilobakter türleri, akut enteritis dâhil olmak üzere bakteriyemi, apse, menenjit gibi ekstraintestinal enfeksiyonların yanı sıra; şiddetli enfeksiyonlar sonrası reaktif artritis, Guillain- Barre Sendromu (GBS), Miller Fisher Sendromu (MFS) ve İrritabl Bağırsak Sendromu (IBS) gibi enfeksiyonlara neden olabilir (Pope ve ark. 2007). Yapılan vaka çalışmalarında, hastaların %25-50’sinde *C. jejuni* bakterisi öncülü GBS’ye neden olduğunu gösterilmiştir (Willison ve ark. 2016).

Kampilobakteriyosiz, insanlarda şiddetli karın ağrısı ve kanlı ishal semptomları ile karakterize olmakla beraber bazen ateş, bulantı ve kusma da görülebilir. Hastalığın semptomları enfeksiyondan 12-24 saat sonra ortaya çıkar ve çoğunlukla 24-48 saat içerisinde şiddetlenir ve bir hafta içinde kaybolur. Hastalık tipik olarak kendi kendini sınırlayan ve 5-7 gün sürer. Hastaların az bir kısmında ilk hastalıklarından sonra nüksler görülebilir. İlk enfeksiyondan sonra dışkıda 2-3 hafta kadar kayda değer sayıda bakteri kalabilir (Blaser 1997).

Termofilik kampilobakter türlerinin insanlara direkt ya da indirekt yolla bulaştığı bildirilmiştir. İnsandan insana direkt bulaşma nadir görülmektedir (Musher ve Musher 2014). İndirekt bulaşmada tüm dünyada olduğu gibi enfekte kanatlı eti ve kontamine ürünleri başlıca enfeksiyon kaynaklarıdır. Birçok kampilobakteriosiz salgınlarında insan enfeksiyonları kanatlı etleriyle çıplak elle temas, çiğ veya az pişmiş etlerin tüketilmesi ya da pişmiş ve çiğ etlerin çapraz kontaminasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Whiley ve ark. 2013). Enfekte hayvanlardan sağım esnasında fekal kontaminasyon sonucu çiğ süte Kampilobakter türlerinin geçtiği ve bu sütlerin çiğ ya da pişmemiş olarak tüketilmesi sonucu kampilobakteriosize neden olduğunu bildiren vakalar da mevcuttur (Xiong 2009). Çiğ veya pastörize sütlerde Kampilobakter türlerin 4 °C'de 14 gün yaşayabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Oliver ve ark. 2009). Amerika'da çiğ süt tüketiminin insan sağlığına daha faydalı olduğu düşünülüp çiğ süt tüketimi her geçen gün artmakla beraber, 1978-1986 yıllarında *C. jejuni*'nin etken olarak saptandığı 57 vakanın 26'sında çiğ süt ve 11'inin ise kontamine sütlerin tüketilmesi ile meydana geldiği (Tauxe 1992); yine aynı yıllarda az klorlanmış veya klorlanmamış suların tüketimi ile Kampilobakter enfeksiyonları sebebiyle birçok insanın etkilendiği bildirilmiştir (Vogt 1982).

Evde evcil hayvan beslemek kampilobakteriyosiz riskini artırmakla beraber bu hayvanlarda en önemli etken *C. jejuni* ve *C. coli* türleridir. Hastalık evcil hayvanlara temas sonucu bulaştığı muhtemel olup, semptomatik ve asemptomatik seyrederken her iki durumda da izolasyon oranlarında farklılık görülmediği bildirilmiştir (Mughini ve ark. 2013).

Kampilobakteriosizin meydana gelişinde yaş, cinsiyet ve konağın immun sisteminin durumu önemlidir. Kampilobakteriosiz en çok 5 yaş altı çocuklarda ve

kadınlara göre erkeklerde daha sık görülmektedir (Louis ve ark. 2005). Kampilobakter türlerinin uzun süreli taşınması genellikle sadece AIDS ve hipogammaglobulinemi (yetersiz antikor üretilmesi) gibi bağışıklık yetersizliği olan hastalarda gözlenmiştir. Bağışıklık sistemi baskılanmış, yaşlı veya hamile olan ve tipik olarak ishali veya ishali olmayan bakteriyemi olarak ortaya çıkan kişilerde Kampilobakter kaynaklı ekstraintestinal infeksiyonlar daha sık görülür. Çoğu durumda, hastalık hasta tarafından su ve elektrolitlerle takviyesi ile kendi kendine tedavi edilebilir. Bununla birlikte, hastanın bağışıklığı zayıflamış veya semptomların özellikle şiddetli olduğu durumlarda, eritromisin, tetrasiklin veya florokinolonlar gibi antibiyotikler uygulanabilir (Kirkpatrick ve Tribble 2011). Kampilobakter infeksiyonu üzerine yapılan bir araştırmada gönüllü insanlar kullanılmış ve bulaşıcı dozun minimum 500 hücre kadar düşük olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, bir infeksiyonun klinik sonuçları, kısmen infeksiyona neden olan suşun virülansına, bulaşıcı doza ve hastanın duyarlılığına bağlı olarak değişebilmektedir (Blaser 1997).

Gelişmekte olan ülkelerde, Kampilobakter infeksiyonları endemiktir, ancak hastalık genellikle 5 yaş altı küçük çocuklarla sınırlıdır. Yaşamın erken dönemlerinde çok çeşitli suşlara sık ve çoklu maruz kalmanın (kontamine içme suyu ve çiftlik hayvanlarıyla yakın temas yoluyla), sonraki infeksiyonlara ve hastalıklara karşı koruyucu bağışıklığa neden olabileceği düşünülmektedir (Rao ve ark. 2001). Ayrıca asemptomatik kampilobakter infeksiyonlarının neden yaygın olduğunu hakkında bilgilere ulaşılabileceği de belirtilmiştir ( Havelaar ve ark. 2009). Bununla birlikte, çocuklarda hem semptomatik hem de asemptomatik Kampilobakter infeksiyonlarının, daha zayıf bilişsel gelişim, daha düşük yetişkin çalışma kapasitesi ve daha zayıf hamilelik dâhil olmak üzere uzun vadeli olumsuz etkilere sebep olarak büyüme geriliğine neden olabileceğini gösteren yeni kanıtların olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark. 2013).

Türkiye’de 2000-2020 yılları arasında insanlarda Kampilobakter infeksiyonlarının yaygınlığı üzerine yapılan bazı çalışmalar Tablo 8’de sunulmuştur.

**Tablo 8.** Türkiye’de 2000 – 2020 yılları arasında insanlarda *Kampilobakter* enfeksiyonları üzerine yapılan bazı çalışmalar, izolasyon oranları ve çalışmanın yapıldığı iller.

Çalışmayı yapan araştırmacılar	Çalışma yılı	İzolasyon oranı (%)	Çalışmanın yapıldığı il
Altındış ve Kenar	2000	7	Afyon
Kanan ve Akşit	2000-01	0,6	Eskişehir
Öngen ve ark.	2000-04	1,2	İstanbul
Ateş ve Tuğrul	2001-02	4	Edirne
Aydemir ve ark.	2002	0,8	İzmir
Yazıcı ve ark.	2008	4,5	Aydın
Yıldız ve ark.	2009	4,46	Mersin
Avcu ve ark.	2013-14	10,1	İzmir
Elmacı	2015	10,8	İzmir
Teksoy	2016-18	6,2	İstanbul
Borucu ve ark.	2019	2,2	Ş.Urfa

## 2.8.2 Hayvanlarda *Kampilobakteriyosis* ve Prevalansı

### 2.8.2.1 Kanatlı Hayvanlarda *Kampilobakteriyosis*

Kümes hayvanlarında *Kampilobakter* enfeksiyonlarında genellikle doğal koşullar altında klinik hastalık belirtisi gözlenmez. Çünkü *Kampilobakter* türleri, kanatlı hayvanların bağırsak florasında yerleşik bulunan mikroorganizmalardır (Skirrow 1994). Alt gastrointestinal sistemde yüksek konsantrasyonlarda kolonileşebilir ve lenfoid organlar, karaciğer ve safra kesesinde doğal olarak bulunabilirler (Skirrow ve Blaser 2000).

Kanatlı hayvanlarda *Kampilobakter* enfeksiyonu esas olarak gastrointestinal sistem rahatsızlıkları ile sınırlıdır. Bağırsaklarda sıvı, gaz ve fazla mukus birikimine bağlı olarak şişkinlik (Welkos 1984) ve bağırsak lümeninde kan ve mukus (Sanyal 1984) görülebilmektedir. Kanatlı hayvanlarda *Kampilobakter* enfeksiyonlarının sulu, mukoid ve kanlı ishal, kilo kaybı ve hatta ölüm gibi klinik hastalıkları tetikleyebileceği yapılan bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, 3 günlük civcivlere yüksek dozda *C. jejuni* verilmesini takiben 72 saat sonra ishal, ilerleyen 10 gün içerisinde kilokayı ve %32 ‘lik ölüm oranı görülmüştür (Ruiz ve ark. 1981). Yeni yumurtadan çıkmış ve 4 günlük hindi kullanılan başka bir



çalışmada, Kampilobakter ile enfekte edilmesini takiben kilo alımında azalma ve geçici sulu ishal gözlemlenmiştir (Lam ve ark. 1992). Bu izole raporlara rağmen, diğer birçok çalışmada kümes hayvanlarında Kampilobakter infeksiyonları ile ilişkili herhangi bir klinik hastalık gözlemlenmemiştir (Berry ve ark. 1988).

Kanatlı hayvanlarda kampilobakter infeksiyonunun, karaciğer ve bağırsaklarda patolojik lezyonlara neden olabileceği de belirtilmiştir (Stephens ve ark. 1998). Benekli karaciğer hastalığı olarak da bilinen vibriyonik hepatit, genellikle 1-2 mm büyüklüğünde, grimsi beyaz renkli fokal lezyonların varlığı ile karakterize bir kümes hayvanları hastalığıdır (Crawshaw ve Young 2003). Daha ağır vakalarda, karaciğerin 4 cm'ye kadar geniş alanları nekrotik hale gelebilmektedir (Moore 1958) ve kanama odakları görülebilmektedir (Sevolan ve ark. 1958). Kampilobakterlerin bu hastalığın etkeni olabileceğinden şüpheli olmasına rağmen vibriyonik hepatit için resmi etiyolojik ajan olarak tanımlanmamıştır (Shane ve Stern 2003).

Kampilobakter türleri bir sürüde tespit edildiğinde kolaylıkla yayılabildikleri ve birkaç gün içerisinde enfekte olmayan sürülerde ve sürülerin yaşadıkları çevrede çok yüksek miktarlarda Kampilobakter izole edildiği bildirilmiştir (Shreeve ve ark. 2000). Kolonize sürüler tipik olarak kesime kadar pozitif kalabilmekte ve bağırsak içeriğinde yüksek miktarda bulunan Kampilobakterler kesim ve işleme sırasında kanatlı etlerini kontamine edebilmektedir (Oosterom ve ark. 1983). Yapılan bir çalışmada, marketlerden alınan 55 piliç göğüs eti örneğinin % 82'sinin ve paketlenme materyallerinin ise %44'ünün Kampilobakter ile kontamine olduğunu saptanmıştır (Pamuk 2006).

Sanayileşmiş ülkelerde satışa sunulan perakende kümes hayvanı ürünlerinde, kampilobakter türlerinin bulunma oranı %30 - % 93 arasında değişmektedir ve insan kampilobakteriyosizine maruz kalmanın önde gelen kaynağı olarak kabul edilmektedir (Pointon ve ark. 2008). EFSA tarafından yapılan bir araştırmada, bazı kanatlı hayvanların etinde termofilik *Campylobacter* türleri izole edilmiş ve 13.445 tane tavuk etinde %37,4 oranında, 1.028 tane hindi etinde %31,5 oranında ve diğer 1.425 kanatlı hayvanın etinde %27,5 oranında termofilik Kampilobakter türleri bulunduğu belirtilmiştir (EFSA 2017).

Son 20 yıldır bütün dünyada kanatlı eti üretimi ve tüketimi sürekli bir artış eğilimi göstermekte ve başta kampilobakteriosiz olmak üzere birçok gıda kaynaklı hastalıkların en büyük nedeni olarak gösterilmektedir. Tablo 9'da; farklı ülkelerde kanatlı etlerinden elde edilen termofilik Kampilobakter izolatlarının tür dağılımı gösterilmiştir (Suzuki ve Yamamoto 2009).

**Tablo 9.** Farklı ülkelerde kanatlı etlerinden elde edilen termofilik Kampilobakter izolatlarının tür dağılımı (Suzuki ve Yamamoto 2009).

Ülkeler	Örnek sayısı	Oranlar (%)		
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Diğer
ABD	797	64,7	27,2	8
Almanya	1078	69,1	17,9	13,2
Avustralya	30	83,3	16,7	0
Belçika	612	87,1	11,4	1,5
Bulgaristan	140	73,6	26,4	0
Danimarka	220	98,2	1,8	0
Estonya	48	87,5	8,3	4,2
İngiltere	800	82,4	16,8	0,9
İspanya	51	72,5	27,5	0
Japonya	1055	89,3	10,4	0,3
Kanada	852	90,3	8,6	0,6
Pakistan	236	66,1	33,9	0
Türkiye	364	69,2	20,9	9,9
Yeni Zelanda	376	98,3	1,7	0

#### 2.8.2.2. Diğer Hayvan Türlerinde Kampilobakteriyozis

Kampilobakteriyozis, sığır yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan abortus ve infertilite ile karakterize, bulaşıcı ve zoonotik bir enfeksiyondur. Sığırların, başlıca termofilik kampilobakter türleri *C. jejuni* ve *C. coli* olmak üzere *C. hyointestinalis*, *C. fetus* ve *C. lanienae* türleri için de rezervuar olduğu gösterilmiştir (Stanley ve Jones 2003). Sığır popülasyonlarında Kampilobakterlerin yaygınlığını yaş, sığır türü, sürü boyutu, mevsim gibi faktörlere ve yetiştiricilik şekline göre %0,8 -%100 arasında olduğu bildirilmiştir (Giacoboni ve ark. 2013). Yapılan çalışmalarda, besi sığırlarının büyük bir bölümünü dışkılarıyla kronik olarak yüksek miktarda kampilobakter saçtığını göstermektedir (Besser ve ark. 2005).

Kampilobakter türlerin sığır karkasları üzerindeki prevalansı, kesim sırasında sakatat hariç %89'a kadar ulaşabilirken, perakende ürünlerde kampilobakter türlerinin prevalansı ihmal edilebilir düzeydedir (Stanley ve Jones 2003). Hastalığın taşıyıcılığı besi sığırcılığında ziyade süt sığırcılığında daha önemlidir. Kampilobakter türleri sığırlarda mastitise neden olabilir bunun sonucu olarak kontamine süt aracılı insan infeksiyonları ve sığır yeni doğanlarında infeksiyon görülebilir. Ayrıca sığırlarda enfeksiyöz etkenlerin mevsimsel olarak taşıyıcılık oranları değişebilmekte, özellikle ilkbahar ve yaz aylarında en yüksek seviyesine ulaşmaktadır (Garenaux ve ark. 2001). Hansson ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada 110 sığır fekal örnekten 71'inde *C. jejuni*, 11'inde *C. hyointestinalis* ve 1'inde *C. lari* olarak tanımlarken aynı çalışmada 43 sığır sütü örneğinden 3'ünde *C. jejuni*, 2'sinde *C. hyointestinalis* ve 1'inde *C.lari* tanımlamıştır (Hansson ve ark. 2019). Karakuş (2011) yapmış olduğu çalışmada ise sığırlardan toplanan 300 safra ve bağırsak içeriği örneklerinden 66 (%22)'sında *Campylobacter spp.* izole etmiştir. İzole edilen bu bakterilerin mPCR analizi sonucu %45,5'i (30\66) *C. jejuni* ve %28,79'u (19\66) *C. coli* olarak tanımlanmıştır (Karakuş 2011).

Kampilobakterler koyunların bağırsak ve safra keselerinde klinik bir infeksiyona oluşturmadan bulunabilir fakat bazı durumlarda kampilobakterler sistemik infeksiyonlara sebep olmaktadır. Kampilobakter infeksiyonları abort, prematüre ya da zayıf doğum ve metritis nedeniyle koyunlarda ölüm ile karakterize edilmiş bir hastalıktır (Sağlam ve ark. 2019). Dünyada en yaygın olan üreme bozukluklarına neden olan türler *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. fetus* subsp. *fetus* 'dur. Bu etkenler, dünya genelinde gebe koyunlarda abortif infeksiyonlara ve gastroenterite neden olmaktadır (Garcia ve ark. 1985). Kampilobakter türleri, fekal oral yolla koyunların bağırsaklarından kan dolaşımına geçerek burada 14 gün kadar kalabilmektedir (Garenaux ve ark. 2001). Gebelik sürecinde etken, hayvanlarda plasentaya ve uterusu yerleşerek yangısal değişikliklere sebep olurlar. Fötal dolaşımına geçen etkenlerin oluşturduğu fötal bakteriyemi abort ile sonuçlanır (Hedstrom ve ark. 1987). Kampilobakter abortları koyunlarda genellikle gebeliğin son 6 haftasında meydana gelir. Gebeliğin son dönemindeki infeksiyonlarda ise prematüre ya da zayıf kuzu doğumları şekillenir (Diker ve İstanbulluoğlu 1986). Allsup (1985) yapmış olduğu çalışmada, İngiltere'de kampilobakteriosiz odaklı

koyun abort vakalarının 1982'de %6,8 'den 1984 yılında %13,1'e yükselmesinde *C. fetus subsp. fetus*, *C. jejuni* ve *C. coli* türlerinin etken olarak belirtmiştir ( Allsup 1985).

Köpeklerde ağırlıklı olarak *C. upsaliensis* bulunmakla birlikte bu hayvanların *C. jejuni*, *C. coli*, *C. helveticus*, *C. lari* dâhil olmak üzere birçok farklı termofilik Kampilobakter türünün taşıyıcıları olduğu bilinmektedir (Rossi ve ark. 2008). Enfeksiyonların, özellikle genç ve bağışıklığı zayıflamış köpeklerde *C. jejuni* ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Burnens ve ark. 1992).

Kedilerde *C. helveticus* başta olmak üzere *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. upsaliensis* dahil çeşitli termofilik kampilobakter türlerini taşıyabilmekte ve aynı zamanda birden fazla türle farklı şekillerde kolonize olmaktadır (Rossi ve ark. 2008). Sanayileşmiş bazı ülkelerde kedilerdeki kampilobakterler yaygınlığı %28-75 arasında bildirilmiştir (Acke ve ark. 2009).

Köpeklerde ve kedilerde *C. jejuni* ve *C. coli* prevalansı diğer hayvanlardaki prevalanslara göre biraz daha düşüktür. Fakat *C. upsaliensis* yaygın olarak bulunur ve insan sağlığı için risk arz etmektedir (Logan ve ark. 2000). Evcil hayvan besleyen ve evcil hayvanlarla yakın temas içerisinde bulunan insanlarda kampilobakteriyosiz yakalanma oranı daha fazladır (Horrocks ve ark. 2009). Abay ve ark. (2014b) yapmış oldukları çalışmada, 120 köpek ve 15 kedi rektal sıvı örneklerinden %38,5 oranında *Campylobacter spp.* izole etmiştir. Tür düzeyinde ise bu izolatlar %64,6 *C. jejuni*, %20,8 *C. upsaliensis*, %10,4 *C. coli* ve %4,2 *C. lari* olarak tanımlamışlardır.

Termofilik Kampilobakterlerden özellikle *C. jejuni* başta olmak üzere, *C. coli* ve *C. lari*'nin yabani kuş türleri arasında yaygınlığı % 0-90 arasında değişmektedir (Colles ve ark. 2008). Güney Kore'de 2017 yılında yapılan bir çalışma, kampilobakterlerin 71 farklı kuş türünde yaygınlığını değerlendirmiş % 15,3'lük bir genel izolasyon oranı elde etmiştir (Kwon ve ark. 2017). Yabani kuşlar yaşadıkları çevreyi, hayvan yemlerini ve tarımsal alanlardaki insan yiyeceklerinin kontamine ederek kampilobakter türlerinin hem kendi aralarında hem de insanlar arasında bulaşmasında rezervuar görevi gördükleri bildirilmiştir (Weis ve ark. 2016). Örneğin Amerika'da bezelye tüketimi ile gerçekleşen bir kampilobakter salgınının sebebi olarak yaban kuşların dışkılarıyla kontaminasyonu düşünülmektedir (Kwan ve ark. 2014).

Kampilobakter türleri, sincaplar, tavşanlar, porsuklar, kokarcılar, rakunlar, tilkiler, yaban domuzları, geyikler, atlar, bufalolar, foklar, kaplumbağalar ve sürüngenler gibi karasal ve suda yaşayan birçok memelide türünde %0-69 oranlarında izole edilmiştir (Baily ve ark. 2015). Fakat yaban hayvanlarının Kampilobakter türlerinin olası rezervuar ve vektörleri olarak rolü tam olarak anlaşılmamıştır. Son yıllarda yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalarda yaban hayatından izole edilen Kampilobakter türlerinin yabani kuşlardan, evcil hayvanlardan, kümes hayvanlarından ve insanlardan farklı türler taşıma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Yaban hayvanlarından izole edilen Kampilobakter türleri diğer konak türlerindekiyle örtüşse dahi genetik olarak farklı olduğu görülmüştür (Viswanathan ve ark. 2013).

## **2.9. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Teşhisi**

### **2.9.1. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Klinik Teşhisi**

Kampilobakter türleri insanlarda şiddetli karın ağrısı, ateş, bulantı ve kusma semptomları ile kendini gösterir. Hastalığın semptomları enfeksiyondan 12-24 saat sonra ortaya çıkar ve 5 ila 7 gün sürmekle birlikte kendini sınırlayan bir hastalıktır (Blaser 1997). Kampilobakterler, gastrointestinal enfeksiyonların yanısıra hepatit, bakteriyemi, miyokardit ve nefrit gibi bazı sistemik enfeksiyonlarda neden olmaktadır (Skirrow 2000). *C. jejuni*, sinir sistemi enfeksiyonu olan Guillian – Barre sendromunun %25-40 bilinen en önemli ölümcül etkenidir (Mishu ve Blaser 1993).

Kampilobakter enfeksiyonları zoonotiktir. Kanatlı hayvanlarda Kampilobakter enfeksiyonlarının sulu, mukoid ve kanlı ishal, kilo kaybı ve hatta ölüm gibi klinik hastalıkları tetikleyebilmektedir (Welkos 1984). Kampilobakterler, gebe sığır ve koyunlarda abortlara neden olmakla birlikte koyunlarda dizanterik enterit (Aydın ve Paracıkoğlu) ve sığırlarda mastisit (Robinson 1981) etkenidir.

Gastrointestinal enfeksiyonlara birden fazla etken sebep olabilmekte ve hastalık birkaç gün veya hafta ile kendini sınırlamaktadır. Fakat ciddi vakalarda antibiyotik kullanımı gerekmektedir. Hastalığa doğru bir teşhis konulabilmesi ve doğru tedavi uygulanabilmesi için vakalardan alınan örnekler laboratuvarında işlenmeli ve tanı prosedürleri uygulanmalıdır.

## 2.9.2. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Laboratuvar Teşhisi

### 2.9.2.1 Klinik Örneklerin Alınması ve Taşınması

Kampilobakter infeksiyonlarının laboratuvar teşhisinde dışkı, kan ve yerleşim gösterdiği sistemlere ait örneklerden (BOS, balgam, idrar gibi) kültür yöntemleriyle izolasyonuna dayanır. Dışkı örneği yerine, rektal sürüntü de tercih edilebilir (Anonim 7). Klinik örnekler uygun taşıma besiyerine alınıp birkaç saat içerisinde laboratuvara nakli gerekmektedir. Dışkı örneklerinin dondurulması izolasyon oranını olumsuz etkilemektedir (Jerris ve ark. 2004). Taşıma besiyeri olarak tiyoglikolatlı ve sistinli alkali pepton, Stuart besiyeri, Campy-Thio, Cary-Blair ya da modifiye Cary-Blair besiyerleri kullanılmaktadır (Aho ve ark. 1988). Yapılan çalışmalar Modifiye Cary-Blair besiyeri *Campylobacter spp.* ve diğer enterik patojenlerin izolasyonu için en uygun taşıma besiyeri olduğunu göstermiştir (Fitzgerald ve ark. 2008). Alınan örnekler modifiye Cary-Blair besiyerinde +4 °C'de saklanabilir. Kampilobakter türleri bu besiyerinde 2 hafta kadar canlı kalabilmektedir (Wang Ween 1983).

### 2.9.2.2 Klinik Örneklerden Termofilik Kampilobakterlerin İzolasyonu

Termofilik Kampilobakter infeksiyonlarının teşhisinde ilk aşama alınan klinik materyallerden etken izolasyonudur (Gerlach 1994). Kampilobakter etkenleri dışkıda yüksek oranda bulunduğu için ön zenginleştirme işlemine tabi tutulmadan direk yüksek selektif özellikli besiyerlerine ekim yapılabilir. Çevresel ve gıda örnekleri, dışkıya oranla daha az mikroorganizma içerdiği için ve çeşitli dış faktörlerin etkisinden dolayı hasar görmüş olabileceği için uygun besiyerlerinde 1-2 gün süreyle ön zenginleştirme işlemine tabi tutulması izolasyon şansını artırmaktadır. Ön zenginleştirme için Preston Broth, Bolton Broth, *Campylobacter* Enrichment Broth, Exeter Broth, Park ve Sanders Broth gibi besiyerleri kullanılmaktadır (Corry ve ark. 1995).

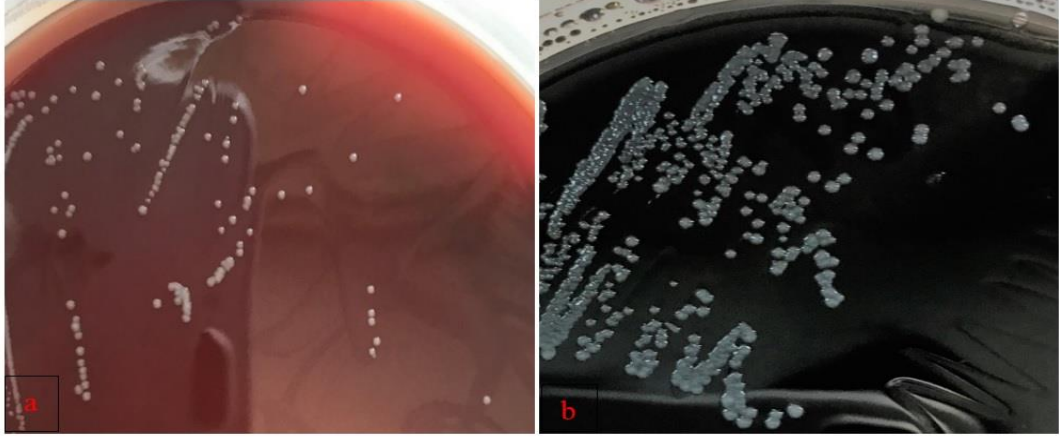
Termofilik Kampilobakter türleri geç ve güç üreyen nazlı bakterilerdir. Dışkı örneklerinden kampilobakter türlerini saptayabilmek için kullanılan besiyeri hem dışkı florasını baskılamalı hem de istenen kampilobakter türlerinin üremesini sağlamalıdır. Besiyerlerine eklenen kan, demir sülfat, kazein, sodyum piruvat, hematin ve kömür mikroorganizmanın metabolizmasını desteklemektedir. Bağırsak

florasını baskılamak için ise besiyerine Basitrasin, Kolistin, Novobiyosin, Sefalotin, Vankomisin, Trimetoprim, Polimiksin B, Amfoterisin B, Rifampin, Sikloheksimid ve Sefaperazon gibi antibiyotikler ilave edilmektedir (Konemann ve ark. 2006).

Kampilobakter türlerinin üretilmesinde kan içermeyen seçici besiyerleri olan kömürlü sefoperazon deoksikolat agar (CCDA), Columbia agar ve kömür bazlı selektif agar (CSM) besiyerleri ve % 5 koyun kanı içeren Sefaperozon, Vankomisin ve Amfoterisin (Campy Agar-CVA) agar besiyeri, Skirrow ve Butzler besiyerleri kullanılmaktadır. Bazı araştırmalar Kampilobakter türlerinin izolasyonunda hem kömürlü hem de kanlı besiyeri kullanımının izolasyon oranında %15 kadar arttırılabileceğini belirtmiştir (Fitzgerald ve Nachamkin 2011).

Termofilik Kampilobakterlerin izolasyonunda kanlı agarda 42 °C’de, mikroaerobik şartlarda, 24-48 saatlik inkübasyon sonunda 0,3-0,5 mm çapında su damlası gibi nemli, gri/beyaz, hemoliz yapmayan koloniler görülmektedir. Kömürlü besiyerinde ise 42°C’de mikroaerobik şartlarda 48-72 saatlik inkübasyon sonrası 0,5 mm çapında, grimsi renkte, düz yüzeyli ancak yayılma eğilimi gösteren koloniler şekillenmektedir (Weber 2000). Yapılan bir çalışmada ishalleri 700 insan dışkı örneği Skirrow ve CCDA seçici besiyerlerine ayrı ayrı ekilmiş, izolasyon oranı her iki besiyerinde aynı olmak üzere örneklerin 21 (%2,9)’i *C. jejuni*, 1 (%0,1)’i *C. coli* ve 1 (%0,1)’i *C. fetus* olarak tanımlanmıştır. Kampilobakter izolasyonunda güçlük yaratan fekal flora ait üreme CCDA’da %15 ve Skirrow besiyerinde ise %73 oranında tespit edilmiştir. Bu verilere dayanarak CCDA besiyerinin kampilobakter izolasyonunda daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür (Öztürk ve ark. 1999).

Resim 2’de Skirrow (kanlı) besiyerinde Kampilobakter kolonileri daha yuvarlak ve beyaz şekilde görülür iken CCDA (kömürlü) besiyerinde koloniler daha yaygın ve grimsi görünmektedir.



**Resim 2.** Kampilobakterlerin koloni morfolojisinin a) Skirow (kanlı) ve b) CCDA (kömürlü) besiyerlerindeki görünümü.

### 2.9.2.3. Termofilik Kampilobakter Türlerin Mikroskopik İncelemesi

Termofilik Kampilobakter türlerinin ön identifikasyonunda mikroskopik morfolojileri dikkate alınır. Kampilobakter şüpheli koloniler alınarak Gram boyama yapıldıktan sonra mikroskop sahasında pembe, martı kanadı, S veya virgül şeklinde Gram negatif etkenler Kampilobakter şüpheli olarak değerlendirilir (York 2007).

Konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonda, seçici besiyerlerinde üreyen ve mikroskop görüntüsü termofilik Kampilobakter şüpheli olan örnekler oksidaz ve katalaz testi uygulanır. *C. jejuni*'nin tür ayırımında hippurat hidrolaz enzimini üreten tek tür olduğu için hippurat hidroliz testi önerilmektedir. Bu test bakterilerdeki hippurat hidrolaz enzimi yardımıyla sodyum hippuratın parçalanarak benzoik asit ve glisine dönüşümünü ve ninhidrin ayracı yardımıyla benzoik asitin renk değişiminin sağlanması ile koyu mor renk oluşması prensibine dayanmaktadır (York ve ark. 2004). İndoksil asetat disk testi *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. upsaliensis* için pozitif sonuç verirken, *C. lari* için negatif sonuç vermektedir. Nitrat redüksiyonu, TSI agarda H<sub>2</sub>S üretimi, nalidik asit ve sefalotin duyarlılık testleri de identifikasyon amaçlı uygulanan diğer biyokimyasal yöntemlerdir. Fakat yapılan bazı araştırmalarda biyokimyasal yöntemlerin tür tayininde yoğun olmayan inokulumlar, eksik uygulama veya eski kültür kullanımı gibi sebeplerden dolayı tür tayininde yeterli olmadıkları belirtilmiştir.



### **2.9.2.4 Termofilik Kampilobakter Türlerinin İdentifikasyonu**

İdentifikasyonun temel amacı, fenotipik veya genotipik belirteçleri test ederek bir bakterinin popülasyon yapısını oluşturan farklı soyları veya alt türlerini belirlemektir. Günümüzde enfeksiyöz hastalıkların epidemiyolojisinin vazgeçilmez bir bileşenidir. Sürveyans, salgın tespiti ve koruma-kontrol stratejilerinin geliştirmesi için kullanılabilir (Taboada ve ark. 2013).

### **2.9.3. Termofilik Kampilobakterlerin İdentifikasyon Yöntemleri**

#### **2.9.3.1 Fenotipik Yöntemlerle İdentifikasyon**

Kampilobakter türleri için geliştirilen ilk identifikasyon yöntemleri bakterileri fenotipik, fiziksel ve biyokimyasal özelliklerine göre ayırt etmek için tasarlanmıştır (Taboada ve ark. 2013). Fenotipik identifikasyon, biyotiplendirme (Bolton ve ark. 1984), serotiplendirme (Lior ve ark. 1982), faj ile tiplendirme (Grajewski ve ark. 1985), rezistotiplendirme (antibiyotik duyarlılığa göre tiplendirme) (Ribeiro ve ark. 1996) ve Çoklu-Lokus Enzim Elektrofrezisi (MEE) (Moore ve ark. 2002)'den oluşmaktadır. Bununla birlikte, serotiplendirme şemaları haricinde, bu yöntemlerin yaygın olarak benimsenmesi sınırlı olmuştur. Çünkü bağımsız olarak geliştirilen biyotiplendirme ve faj tiplendirme şemaları arasındaki teknik farklılıklar sebebiyle, identifikasyon verileri laboratuvarlar arası karşılaştırılması açısından bilimsel olarak tutarlı değildir. Serotiplendirme ve faj tiplendirme, yoğun emek isteyen, teknik olarak zahmetli ve zaman alıcı iken, antiserum ve faj panellerinin bakımı ve kalite kontrolü pahalıya mal olmaktadır (Wassenaar ve Newell 2000). Ek olarak, serotiplendirme ve faj tiplendirme metotları, tiplendirilemeyen suşlara ve çapraz reaksiyon ile ilgili sorunlara yol açmaktadır. Bu yöntemlerden biyotiplendirmenin rezistotiplendirmeden daha yüksek ayırt etme gücü olmasına rağmen, hiçbirisi epidemiyolojik analizlerle elde edilen verilerle tutarlılık gösteren güçlü kanıtları sunmamaktadır (On ve ark. 2008).

#### **2.9.3.2 Serolojik Yöntemlerle İdentifikasyon**

Kampilobakter türleri için güvenilir genotiplendirme yöntemleri geliştirilmeden önce, serolojik yöntemleri kullanılmıştır. 1980' lerin başlarında, ısıya

dayanıklı antijenlere dayanan Penner şeması (Penner ve Hennessy 1980) ve ısıya duyarlı antijenlere dayanan Lior şeması (Lior 1982) adlı iki ana serotiplendirme şeması geliştirilmiştir. Bununla birlikte yüksek sayıda tiplendirilemeyen izolat oluşumu ile maliyetli ve zaman alıcı olması nedenleriyle serotipik yöntemlerin yerini genotiplendirme yöntemleri almıştır.

Son yıllarda geliştirilen ve *C. jejuni*'nin rekombinat P18 ve P39 antijenlerine karşı geliştirilen ve antikor yanıtını tespit eden yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip ELISA testi geliştirilmiş olmasına rağmen *C. jejuni*'nin yüksek heterojen antijenik yapısından dolayı standardize edilememiştir (Schmidt ve ark. 2005).

### 2.9.3.3 Genotipik yöntemlerle İdentifikasyon

Moleküler biyolojik tekniklerdeki ilerlemeler, genotipik yöntemlerin eş zamanlı olarak gelişmesine ve popülerleşmesine yol açmıştır. Genotipik alt tiplendirme yöntemleri; farklı kısıtlama bölgeleri, genleri veya diğer genetik belirteçleri ile tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) gibi mikroorganizmanın DNA'sında belirli genomik bölgeleri inceleyerek bakteri suşlarını ayırt etmede kullanılmaktadır (Tabaoda ve ark. 2013). Ayrıca genotipik yöntemler üstün ayırt edici özellikleri, standardizasyonu, tekrarlanabilirliği ve tiplendirilebilirliğine ek olarak, izolatlar arasında genomik ilişkiyi ortaya çıkarmak için kullanılabilir (Eberle ve Kiess 2012).

Genotipik tiplendirmede Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS), Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD), Darbeli alan jel elektroforezi (PFGE) ve *flaA* kısa değişken bölge (*flaA* – SVR) kullanılan bazı önemli moleküler yöntemlerdir (Eberle ve Kiess 2012).

PCR yöntemi bir DNA zincirinin bilinen iki parçası arasında uzanan özel bir DNA parçasının enzimatik olarak çoğaltılmasını sağlayan in vitro bir tekniktir. Bu teknikle çok kısa sürede tek bir genin milyonlarca kopyası oluşturulmaktadır. Mullis (1985) tarafından keşfedilen PZR yönteminin (Lorenz 2012) en önemli avantajları, yüksek özgünlük ve duyarlılığa sahip olması ve hızlı sonuç elde edilmesidir. Dezavantaj olarak ise primer bağlanımını ve *Taq* aktivitesini engelleyen inhibitör

maddelerin varlığından kaynaklanan yanlış negatiflik elde edilmesidir (Loeffelholz ve Deng 2006). PZR’de hedef genler amplifiye edilirken bakteri cinsine özgün oldukça iyi korunan gen bölgeleri seçilmelidir. 16S rRNA genleri bunlara en iyi örnek olup termofilik kampilobakter türlerinin tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır (Astorga ve Alonso 2010).

RAPD-PCR yönteminde bilinen özgül bir DNA bölgesini çoğaltmak yerine rasgele seçilmiş primerlerle DNA’daki birçok bölgenin çoğaltılması esasına dayanır. Genetik polimorfizmi belirleyen PZR temelli bit tekniktir (Kirkpatrick ve Tribble 2011).

Darbeli alan jel elektroforezi (PFGE),jel matrisine periyodik olarak yönü değiştiren bir elektrik alanı uygulayarak büyük DNA moleküllerinin ayrılması için kullanılan bir tekniktir. DNA molekülü ne kadar büyükse tekrar yönelme o kadar uzun sürmekte ve 10-800 kp DNA segmentleri ayırt edilebilmektedir (Hanninen ve ark. 1999).

flaA kısa değişken bölge (flaA – SVR)-PCR, yüksek derece korunmuş ve değişken bölgede yer alan flaA genine özgü primerler ile PZR yapılır. Genom, primerlerin bağlanması ardından rekstrüksiyon enzimi ile kesilir ve oluşan DNA parçaları jelde yürütülerek oluşan bantlar yardımıyla tiplendirme yapılır (Nachamkin ve ark. 2001).

#### **2.9.3.4. Kütle Spektrometrisi ile İdentifikasyon**

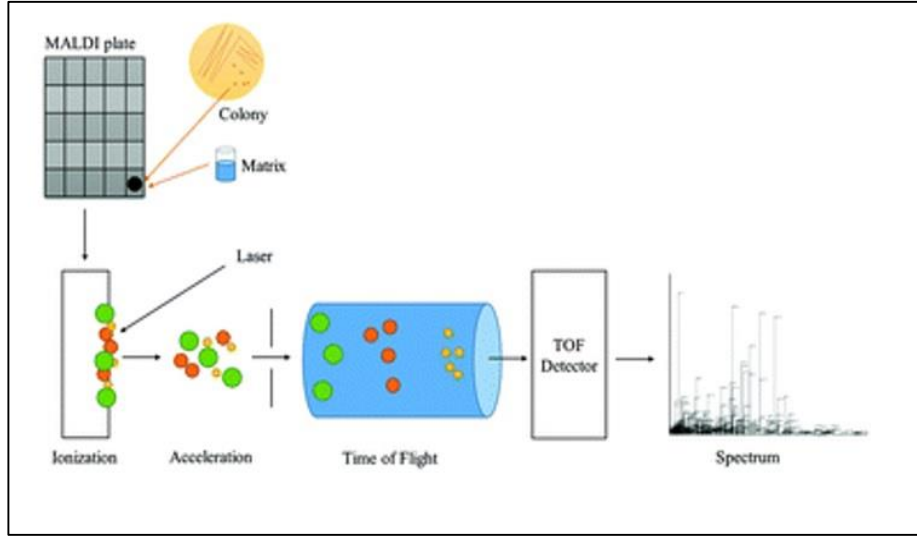
##### **2.9.3.4.1. MALDI-TOF MS**

Bu yöntemde mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül) lazer ile iyonize edildikten sonra manyetik alandan geçirilerek protein profilleri çıkarılmaktadır. Bu profil spektralarına ait grafiksel görüntülerin sistemin veri tabanındaki referans organizmaya uyumuna göre mikroorganizmalar cins ve tür bazında tanımlanabilmektedir (Lawton ve ark. 2018). Birçok laboratuvar da aerobik ve anaerobik bakterilerin, mikobakterilerin ve mantarların tanımlanması, idrar örneklerinde ve pozitif kan kültürü şişelerinden etken tanımlamasında kullanılmaktadır (Woz’niak-Biel ve ark. 2018).

MALDI-TOF, ucuz olması, hızlı tanımlama yapabilmesi ile günümüz konvansiyonel ve moleküler tanımlama yöntemlerine bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (Bessede ve ark. 2010).

MALDI-TOF MS yönteminde, VITEK® MS (bioMe'rieux Inc.) ve MALDI Biotyper CA Sistemi (Bruker Daltonics Inc.) olarak 2 sistem kullanılmaktadır. Bunlardan MALDI Biotyper CA Sistemi masa üstü bir cihaz iken, VITEK® MS daha geniş zeminli bir cihazdır (Woz'niak-Biel ve ark. 2018).

MALDI-TOF MS ile tek bir koloniden bakteri analizi yapılabilmektedir. MALDI-TOF-MS analizinde örnek hazırlamak için plak kuyucuklarında mikroorganizma, matriks solüsyonu ile karıştırılarak kristalize hale getirilmesi gerekmektedir. Matriks ile karıştırılarak kristalize hale gelen örnekler kuruduktan sonra analiz için hazır hale gelmektedir. Hazırlanan plaklar cihaza yüklenmesinin ardından örnekler lazer bombardımanına maruz kalır. Bu bombardımandan sonra örnek karışımı lazerden enerji alır. Alınan bu enerji, karışımdan iyonların buharlaşmasına ve gaz fazına geçmesini sağlar. Serbestleşen iyonlar elektromanyetik alanda hızlandırıldıktan sonra uçuş tüpüne geçerler ve uçuş tüpünde geçirdikleri zamana göre kütle ağırlıkları tespit edilir. MALDI ile yapılan desorbsiyon sonucunda açığa çıkan iyonlar tek yüklü iyonlar olduğundan elde edilen pikler ile kütle spektrum grafikleri oluşur (Resim 3). Tanımlanan izolatin kütle spektrumu, veri tabanındaki kütle spektrumu karşılaştırılarak değerin ne kadar yüksek olduğuna bağlı olarak, organizma aile, cins veya tür düzeyinde tanımlanır (Nowaczek ve ark. 2019). VITEK MS V3.2 de IVD veri tabanında onaylı 1095 bakteri ve 221 mantar toplam 1316 mikroorganizma türü bulunmaktadır. Ayrıca araştırma amaçlı RUO veribanında ise 1445 mikroorganizma yer almaktadır (Wieser ve ark. 2012).



**Resim 3.** MALDI-TOF MS yönteminin aşamaları (Santos ve ark. 2016).

### 2.10. Termofilik Kampilobakter Enfeksiyonlarının Tedavisi

Kampilobakter enteritleri genellikle kendini sınırlayan bir hastalıktır. Tedavi olarak kaybedilen su yerine vücuda herhangi bir yolla su verilerek kaybedilen elektrolitler yerine koymaya çalışılır. Her ne kadar çoğu vakada antimikrobiyal tedavi gerekmesede yenidoğan, immün sistemi baskılanmış hastalarda, bakteriyemi durumunda, şiddetli ve uzun süreli kampilobakter enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisi gerekmektedir. Kampilobakter enteritlerinde ilk tercih edilen ilaç makrolidlerdir. İkinci tercih olarak florokinolon ve tetrasiklinler kullanılan diğer antimikrobiyal ajanlardır (Murray ve ark. 2010).

### 2.11. Termofilik Kampilobakter Türlerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direnç, dünyada hızla yayılan klinik bir problemdir. Bu nedenle toksisitesi az, etkinliği iyi, fekal florayı baskılamayan, direnç gelişimine yol açmayan ve aynı zamanda da ucuz olan bir antibiyotik tercihi her zaman önemlidir (Blaser ve Allos 2005). Kampilobakter enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın tercih edilen ilaçlar arasında florokinolonlar (örn: Siprofloksasin) ve makrolidler (örn: Azitromisin) bulunur. Florokinolon direnci günümüzde Kampilobakterler arasında çok yaygındır ve bu nedenle makrolidler Kampilobakter enfeksiyonlarının tedavisi için daha sık kullanılmaktadır. Florokinolon ve makrolid direncinde CmeABC çoklu ilaç dışı akış pompasından kaynaklanabilir. Pompa, florokinolon ve makrolid direnci

için mutasyonlarla sinerji içinde çalışarak yüksek düzeyde dirençle sonuçlanır. Efluks pompasının inaktivasyonu, Kampilobakterlere karşı içsel dirence sahip olanlar da dahil olmak üzere, birkaç antibiyotiğe duyarlılığın artmasına neden olmaktadır (Wieczorek ve Osek 2013). Kampilobakterler arasında Tetrasiklin grubu antibiyotiklere direnç %25 iken, aminoglikozidler için direnç %1 civarında görülmektedir (Allos ve ark. 2004).

Termofilik kampilobakterler antimikrobiyal ajanların seçim baskısına karşı koymak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar şunları içerir (Tang ve ark. 2017):

- Antibiyotiklerin hedeflerine erişiminin sınırlandırılmasıdır. Membran geçirgenliğinin azaltılması ve efluks pompaları ile antibiyotiklerin itilip çıkarılmasının artırılması
- Antibiyotik hedeflerin değiştirilmesi veya maskelenmesi
- Antibiyotiklerin modifikasyonu veya inaktivasyonu

### 2.11.1. Florokinolonlara Direnç Mekanizması

Kinolonlar, hem Gram negatif hem Gram pozitif bakterilere karşı etkili olan geniş spektrumlu bir antibiyotik grubudur (Andersson ve MacGowan 2003). Bakteri içine girdikten sonra florokinolonlar antibakteriyel etkilerini DNA giraz ve topoizomeraz IV ile etkileşime girerekve çift iplikli DNA'da kırılmalara ve takiben hücre ölümüne sebep olarak gösterirler. Gram negatif bakterilerde giraz enzimi, Gram pozitiflerde ise topoizomeraz enzimi florokinolonların ana hedefleridir (Jacoby 2005). Kampilobakterlerde florokinolon direnci iki ana mekanizma ile ortaya çıkar. Birincisi bakterinin hücre içi antibiyotik birikimini azaltan ve antibiyotik hedefini değiştiren mutasyonlardır. İkincisi ise Gram negatif bakterilerde Qnr proteinin aracılık ettiği hedef koruma mekanizmasıdır (Martin-Gutierrez ve ark. 2017). Gram negatif bakterilerde giraz enzimi *gyrA* ve *gyrB* olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır (Payot ve ark. 2006). Bu nedenle, *C. jejuni* ve *C. coli*' deki florokinolon direnciyle bağlantılı mutasyonlar esas olarak *gyrA* gen bölgesinde meydana gelmektedir. Bu bölgenin DNA giraz yüzeylerinde yer alan kampilobakterler için 86-90 aminoasit pozisyonunda DNA bağlanma bölgeleri yer

almaktadır (Friedman ve ark. 2001). Florokinolon dirençli kampilobakter izolatlarında en sık gözlenen mutasyon Thr-86-Ile gen bölgesindedir ve yüksek düzeyde (Siprofloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MIC)  $\geq 16 \mu\text{g ml}$ ) dirence yol açmaktadır (Luo ve ark. 2003).

### 2.11.2. Makrolidlere Direnç Mekanizması

Makrolid antibiyotikler içerisinde eritromisin, azitromisin ve klaritromisin gibi antibiyotiklerin yer aldığı ve genellikle 15 veya 16 üyeli büyük bir makrosiklik lakton halkasından oluşan bir doğal ürünler sınıfıdır (Tenson ve ark. 2003).

Makrolidler, 23S rRNA ve proteinlerinden oluşan ribozoma bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Genellikle Gram pozitif kokların (örn: Stafilokoklar ve Streptokoklar), Gram pozitif basillerin, Gram negatif kokların ve *Campylobacter* ve *Helicobacter* gibi bazı Gram-negatif basillerin tedavisinde kullanılırlar (Leclercq 2002).

Kampilobakteriyozun klinik tedavisi için eritromisin gibi makrolidler tercih edilen ilaçlar olarak kabul edilir. Azitromisin ve klaritromisinin de aynı etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Bakterilerde makrolitler için üç direnç mekanizması vardır. Bunlar:

- Mutasyon veya metilasyon yoluyla hedef bölgelerin modifikasyonu
- Bakteriyel hücrelerden antibiyotiklerin aktif olarak dışarıya atılması
- Antibiyotiklerin inaktivasyonu olarak bildirilmiştir.

Kampilobakterlerde ilk iki direnç mekanizması belgelenmiştir (Tenson ve ark. 2003). Kampilobakterler'de 23S rRNA'da yer alan *A2074C*, *A2074G*, *A2074T* ve *A2075G* gen bölgelerindeki nokta mutasyonlar makrolid direnç ile ilişkilendirilmiş ve en sık *A2075G* nokta mutasyonu görülmüştür (Vacher ve ark. 2005). Ayrıca *rpID* ve *rpIV* genleri tarafından kodlanan ribozomal protein L4 ve L22' nin modifikasyonunda, Kampilobakterlerin makrolid direnci oluşturduğu belirtilmiştir (Corcoran ve ark. 2006). Son yapılan çalışmalarda, Kampilobakterlerde rRNA metiltransferazı kodlanmasında *erm(B)* geninin aracılık ettiği bildirilmiştir. Avrupa ve Çin'de *C. jejuni* ve *C. coli* 'de *erm (B)* geni rapor edilmiştir (Quin ve ark. 2014).

### 2.11.3. Beta Laktamlara Direnç Mekanizması

Beta-laktam antibakteriyeller, bakterilerin hücre duvarı sentezi sırasında peptidoglikanların çapraz bağlanmasını bozarak bakterilerin çoğalmasını engellemektedir. Kampilobakter infeksiyonlarının tedavisi için sık tercih edilen beta laktamlar hem florokinolon hem de makrolid grubu antibiyotiklere dirençli kampilobakterlerin tedavisinde bir alternatif olarak kullanılmaktadır.

Beta-laktam direnç mekanizması;

- Beta-laktamaz OXA-61 üretimi
- Çoklu ilaç dışarı atılım mekanizması şeklinde meydana gelmektedir (Komba ve ark. 2015).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kampilobakter izolatlarının büyük bir kısmının ampisiline dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca beta laktam direncinin *C. coli* izolatlarında *C. jejuni*' ye göre daha yaygın meydana geldiği de belirtilmiştir (Komba ve ark. 2015).

### 2.11.4. Tetrasiklinlere Direnç Mekanizması

Tetrasiklinler, insan ve hayvanlarda kampilobakter infeksiyonlarının tedavisinde sık tercih edilen antibiyotik grubudur. Bu antibiyotikler ribozomal 30S alt birimi ile etkileşime girerek bakterinin protein sentezini inhibe ederek bakterilerin çoğalmasını engellemektedir (Chopra ve Roberts 2001). Termofilik Kampilobakterlerin tetrasiklinlere direnç mekanizmaları şu şekildedir (Connel ve ark. 2003);

- Tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki hedeflerinin değişmesi
- Efluks pompası

Ribozom üzerindeki hedef bölgeden salınan *tet(O)* geni tetrasiklin molekülüne bağlanmaktadır. Efluks pompası ise bakteri hücrelerinden tetrasiklinleri dışarı atan *tet(O)* membran proteini görev yapmakta tetrasiklinlere hem doğal hem de kazanılmış dirence katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Gibreel ve ark. 2007).



### 2.11.5. Aminoglikozidlere Direnç Mekanizması

Geniş spektrumlu antibiyotikler sınıfında yer alan aminoglikozidler, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde yaygın kullanılmaktadır. Antibakteriyel aktivitelerini 30S ribozomal alt birimini bağlanarak gösterirler. Böylece bakteri proteinlerinin biyosentezinin bozulmasına sebep olurlar (Mingeot-Leclercq ve ark. 1999).

Gentamisin önemli bir aminoglikozittir ve insanlarda kampilobakterlerin neden olduğu sistemik infeksiyonlar dâhil olmak üzere ciddi birçok enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca 1 ila 3 günlük hindi ve civcivler dâhil olmak üzere genç hayvanlarda bakteriyel infeksiyonlarla ilişkili ölümlerin önlenmesi için kullanıldığı bildirilmiştir (Falagas ve ark. 2008). Bu grup antibiyotiklerin direnç mekanizması;

- Eflüks pompası ile ilacın hücre dışına taşımının sağlanmasıyla hücre içinde ilaç birikiminin azaltılması
- 16S rRNA'da ilaç bağlanan bölgelerde metilasyon
- Antibiyotığın şeker kısımlarının -OH veya -NH<sub>2</sub> gruplarında enzimatik modifikasyonlar (en önemli mekanizma olarak kabul edilir) olarak belirtilmiştir (Ramirez ve Tolmasky 2010).

Kampilobakterler de dâhil olmak üzere birkaç bakteri türünde aminoglikozid yapının aminoglikozit asetiltransferazlar, aminoglikozid fosfotransferazlar ve aminoglikozid nükleotidiltransferazlar gibi enzimler tarafından modifikasyonu bilinen direnç mekanizmalarıdır. Aynı zamanda *aph (3') -I* geni Gram-negatif bakterilerde ribozom ve plazmidlerde yaygın olarak belirlenmiştir (Lambert ve ark. 1985).

### 2.11.6. Çoklu İlaç Direnci

Klinik önemi olan bakterilerdeki çoklu ilaç direnci (ÇİD), bugün tüm dünyanın karşı karşıya kaldığı en önemli sorunlardan biridir. ÇİD gösteren bakteriler hastane, toplum ve hayvanlarda klasik antibiyotik tedavisine cevap vermeyen ve tüm dünyada yüksek morbidite ve mortalitenin sebebi haline gelmiştir (Çöleri ve Çökmüş 2008). Bazı bakteriler, antibiyotiklere karşı iki farklı tipde direnç gelişimi gösterir.

Bunlardan birincisi doğal yapılarından kaynaklı olarak görülen dirençtir ve buna 'doğal direnç' denilmektedir. İkinci direnç tipi ise çok fazla ve gelişi güzel kullanımdan kaynaklı olarak antibiyotiklere duyarlı bakterilerdeki direnç gelişimidir ve bu tip gelişimede 'Kazanılmış Direnç' denilmektedir (Çiftçi ve Aksoy 2015). Antimikrobiyal ilacın hedefinde ortaya çıkan değişiklikler veya enzimatik yolla antimikrobiyalin inaktivasyonu, bakterilerde ilaç direncine yol açan mekanizmalardan bazılarıdır. Ayrıca, bakteriyel transport proteinlerinden bazılarının toksik antimikrobiyal bileşikleri aktif olarak hücre dışına pompaladığını ve bunun çoklu ilaç direncinde oldukça etkin rol oynayan bir başka mekanizma olduğunu belirlenmiştir. Bu pompalama mekanizmasının ekspresyonlarının mutasyona uğraması sonucu florokinolonlar, beta-laktamlar, tetrasiklinler, aminglizkozidler ve kloramfenikol gibi farklı sınıftan birçok antimikrobiyal ilaca karşı yüksek düzeyde direnç göstererek çoklu ilaç direnci meydana gelebilmektedir (Hasdemir 2007).

Antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin kontrol altına alınabilmesi için antibiyotikler kısıtlı ve dönüşümlü olarak kullanılmalı, antibiyotik kullanımı eğitimi verilmeli, ilaç firmaları denetlenmeli, antibiyogram yaparak doğru antibiyotik seçilmeli, antibiyotiklere karşı direnç durumu belirlenmelidir (Çiftçi ve Aksoy 2015).

## **2.12. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri**

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, hastaların tedavisine yol göstermek amacıyla uygun antibiyotiklerin seçimi için yapılmaktadır. İn vitro şartlarda etken bakteri üzerinde yapılan antimikrobiyal ilaçların sonucuna göre ön bilgi elde edilip ilaç tercihi yapılabilmektedir. Fakat bazen antibakteriyel ilaçların in vitro ortamda verdiği sonuç hasta üzerindeki sonuçlarla aynı olmayabilir. Bunun sebepleri arasında inokulum hazırlama, uygun ortam, steril şartlar ve bakteri yapısının bozulması gibi etkenler sayılabilir (Bilgehan 2005).

In vitro antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesinde disk difüzyon, E-test, agar dilüsyon, broth makro ve mikrodilüsyon ve bazı otomatize sistemler kullanılmaktadır. Kullanılan testin Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI 2008a ve 2008b). İngiliz Antimikrobiyal Kemoterapi Derneği (BSAC) (Andrews, 2009) ve Fransız Mikrobiyoloji Derneği Antibiyogram Komitesi CA-SFM (294)'da belirtilen gibi uluslararası kabul görmüş bir prosedüre uygun olarak

yapılması gerekmektedir. CLSI, insan ve hayvanlar için ayrı ve tutarlı bilgiler verdiği için daha sık tercih edilmektedir (Schwarz ve ark. 2010). Termofilik *Kampilobakter* türlerinin antimikrobiyal madde duyarlılık analizleri için disk difüzyon, E-test ve agar dilüsyon yöntemleri tercih edilmektedir (Moore ve ark. 2006).

### 2.12.1. Disk Difüzyon Testi

Antimikrobiyal maddelerin keşfedilmesinin ardından bunların duyarlılık analizleri yapılmadan gelişigüzel kullanımı sonucu klinik patojenler arasında ilaç direnci sorunu ortaya çıkmıştır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu sorunun çözülmesi, antimikrobiyal madde duyarlılıklarının belirlenmesi, için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Bondi ve ark. 1954).

Disk difüzyon yöntemi, kâğıt disklere antimikrobiyallerin radyal difüzyonuna dayanan bir yöntemdir. Klinik örneklerden izole edilen patojenlerin antimikrobiyal madde duyarlılıklarının test edilmesinde uygun olduğu kanıtlanmış bir yöntemdir (Kahlmeter ve ark. 2004).

Disk difüzyon amaçlı ilk olarak ICS yöntemi (International Collaborative Study) (Ericsson ve ark. 1971) ve Kirby - Bauer disk difüzyon yöntemi (Bauer ve ark. 1976) kullanılmış sonraki yıllarda birkaç tamamlayıcı yenilik ile disk difüzyon yönteminin doğruluğu kanıtlanmıştır. Disk difüzyon yöntemi için genelde %7 koyun kanlı veya kan ilavesiz Mueller Hinton Agar (MHA) katı besiyerleri kullanılır. Patojen bakterinin taze kültürüne ait kolonilerinden McFarland 0,5 standardına göre steril buffer ile bulanıklığı ayarlanır. MHA besiyerlerine hazırlanan bakteri kültüründen 100 ul aktarılarak baget ile yayma ekim yapılır. Antibiyotiklerin belli konsantrasyonlarını içere kâğıt diskler belli aralıklarla bakteri ekilen petri kabına yerleştirilir ve uygun sıcaklıkta, uygun atmosferik şartlarda ve uygun sürede inkübe edilir (Matuschek ve ark. 2013). Patojen üzerinde etkili olduğu seviyelerde antibiyotik diski etrafında patojenin üreyemediği bir alan oluşur ve bu alan dairesel bir inhibisyon zonu olarak adlandırılır. Oluşan zonun çapı ölçülür ve bu değer doğrudan patojenin duyarlılığı ile ilişkilendirilir. Kâğıt disk etrafında inhibisyon zonunun oluşmaması, bakterinin antibiyotik ajana karşı dirençli olduğunu gösterir (Jorgensen ve Turnidge 2007).

### 2.12.2. E (Epsilometer)-Test

E test, bir yüzüne artan gradyan konsantrasyonunda antimikrobiyal madde emdirilmiş ince plastik şeritlerden oluşmaktadır. Şeridin diğer yüzü, iki kat seyreltme arasındaki artışlar esas alınarak artan antibiyotik konsantrasyonlarına sahip bir MİK ölçüğü ile işaretlenmiştir. E-test için, kan ilaveli veya ilavesiz MHA katı besiyerlerine bakteri kültürü disk difüzyondaki gibi hazırlanarak yayma ekim yapılır. E-test stripleri antibiyotik emdirilmiş kısım alta kalacak şekilde bakteri ekilmiş MHA besiyerlerine yerleştirilir ve uygun şartlarda inkübe edilir. MİK, elipsin alt kısmının test şeridi üzerindeki karşılık gelen numara (antibiyotik konsantrasyonu) ile kesiştiği noktada okunur (Schuetz 2014).

### 2.12.3. Dilüsyon Testleri

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal maddenin bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için kullanılmaktadır. Dilüsyon testleri, "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Tüp dilüsyon testinde antibiyotiklerin sıralı dilüsyonlarının yapıldığı deney tüpleri kullanılmakta ve "makrodilüsyon" olarak adlandırılmaktadır. Mikrodilüsyonda ise antibiyotiklerin sulandırılması deney tüpleri yerine ELİSA pleytlerinde yapılmaktadır. Antimikrobiyal maddenin tüp içerisinde genelde iki katlı alt dilüsyonları hazırlandıktan sonra eşit miktara bakteri süspansiyonu (McFarland 0,5'e göre ayarlanmış) eklenerek uygun şartlarda inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası bulanıklık konsantrasyonlarına bakılır. Bakterinin ümediği yani görülebilir bir bulanıklığın olmadığı antimikrobiyal madde konsantrasyonu minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilir (Qi ve ark. 2006)

## 2.13. Termofilik Kampilobakter İnfeksiyonlarında Korunma ve Kontrol

Termofilik Kampilobakter infeksiyonlarının bulaşması, rezervuar veya enfekte hayvanlarla ve bu hayvanların dışkılarıyla temas, kontamine gıda ve su tüketimi ile olmaktadır (Colles ve ark. 2011). Fakat gıda kaynaklı infeksiyonların en önemli kaynağı kanatlı hayvanlardır. Termofilik Kampilobakterlerin üreme ısıları

kanatlı hayvanların üreme ısılarına eşdeğer ve normal bağırsak flora üyeleri oldukları için enfeksiyonlardan korunmada kanatlı hayvanların kesiminden işlenmesine kadar üretimin her aşamasında çeşitli tedbirlerin alınma gerekir (Borucu 2017).

Kanatlı çiftliklerinde alınacak ilk önlemler; hayvan sağlığının veteriner hekimlerin kontrolünde olması, hayvanların barındırıldıkları yerlerin temiz olması ve havalandırılması, kullanılan alet ve ekipmanların temiz ve diğer hayvanlarla uzak temasının olmasıdır (Galanis 2007). Alınacak diğer önlemler ise kesim ve işleme sırasındaki uygulamalardır. Hayvanlar kesilmeden 8-12 saat kadar aç bırakılarak bağırsak içeriği boşaltılmalıdır. Kesim sırasında fekal içerik ile karkas bulaşması engellenmelidir. Parçalama esnasında ellerin ve kullanılacak aletlerin temizliğine dikkat edilmelidir (Koca 2015). Et, mutfağa girdiği andan kullanılıncaya ulaşana kadar buzlukta tutulmalı ve pişirirken etin iç sıcaklığının 74° C'den yüksek olmasına özen gösterilmelidir (Galanis 2007). İnsandan insana bulaş nadir olmakla beraber tedavi için uygun antimikrobiyal ilaç kullanımı önerilmektedir (Allos 2001). Su ve süt kaynaklı enfeksiyonlarından korunmada ise pastörize edilmemiş süt tüketilmemeli ve su kaynaklarının klorlanması ve dezenfekte edilmesine dikkat edilmelidir (Koca 2015). Ayrıca termofilik kampilobakter kolonizasyonunun önlenmesinde karkas dekontaminasyonu amaçlı bakteriyofajların da kullanımının faydalı olduğu bildirilmiştir (Connerton ve ark. 2008).

#### **2.14. Kaz Yetiştiriciliği ve Ekonomik Önemi**

Kaz yetiştiriciliği son yıllarda dünya çapında hızlı bir şekilde gelişmektedir. Dünyada yaklaşık olarak 380 milyon adet kaz bulunmaktadır (FAO 2016). İngiltere, Kanada, ABD, Çin, Polonya, Fransa, Bulgaristan ve Rusya kaz yetiştiriciliği yapılan başlıca ülkelerdir (Anonim 4). Türkiye'de ise 1.080 adet kaz bulunmakta ve bu kaz varlığı ile dünyada on beşinci sırada yer almaktadır. Bu verilerle genel bir değerlendirilme yapıldığında Türkiye, dünyada kaz yetiştiriciliğinde önemli bir ülke konumundadır (Cilavdaroğlu ve ark. 2020).

Dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi Türkiye'de de kaz varlığı; bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Kaz yetiştiriciliği her tür iklime sahip bölgelerde yapılmakta fakat özellikle soğuk iklime sahip bölgelerde, yetiştirilme yoğunluğu daha yüksek olmaktadır (Huang ve ark. 2008). Kars ili, Kars Tarım ve Hayvancılık

Sektörü'nün 2018 verileri doğrultusunda 274.157 kaz varlığına sahiptir (Anonim 2). Ayrıca ikliminin soğuk olması, geniş mera alanlarına sahip olması, geleneksel halk alışkanları bakımından kaz yetiştiriciliğinde önemli bir konumdadır.

Kaz etinin iyi bir protein kaynağı olması ve özellikle arginin gibi elzem aminoasitleri içermesi, yüksek oranda doymamış yağ asitlerine sahip olmasından dolayı insan beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptir (Liu ve ark. 2011). Kaz etinin yüksek besleyici değerinin yanısıra kaz ciğeri dünyada sevilerek tüketilen kıymetli bir yemektir. Örneğin; Fransa'da kaz ciğeri önemli bir yeri vardır (Sarica 2018). Kazlardan elde edilen en önemli ürünlerden birisi tüydür. Kaz tüyü bir dolgu maddesi olarak giyim sanayinde, yastık, yorgan ve birçok üründe kullanılabilir. Kazlar üretim yönünden de diğer kanatlı hayvanlara göre daha ekonomiktir. Hastalıklara dayanıklı olmaları ölüm oranını azaltmakta ve ilaç masrafı tasarrufu sağlamaktadır. Özel barınak gereksinimleri yoktur. Diğer hayvanların yaşadığı barınakların bir köşesinde barınabilirler. Kazlar iyi otlatabilen hayvanlardır. Bu sayede yem giderlerinde masrafları azalmaktadır. Ayrıca yabancı otları en iyi ayırt eden hayvanlardır ve tarımda yabancı ot mücadelesinde kullanılabilirler (Anonim 4).

Kazlar kampilobakter enfeksiyonun potansiyel bir kaynağı olup, hem insanlar hemde çiftlik hayvanları için risk oluşturabileceği ayrıca göçmen kuşlar vasıtasıyla uzak mesafelere taşınabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Miller ve ark. 2005). Kazlar tarafından taşınan Kampilobakter türlerinin ayrıntılı popülasyon analizlerinin belirlenmesi, insanlardaki hastalığına neden olma potansiyellerini ve su kaynaklarını ne ölçüde kirletebileceklerini belirlemek için önemlidir. ABD, İskandinavya ve Kanada'da yapılan çalışmalarda, kampilobakter daha taşıma oranları % 0 ila 24 arası değişmekte ancak Türkiye'deki yapılan çalışmalarda yerli kazlarda kampilobakter taşıma oranı % 1 ile 100 arasında değişmektedir (Waldenstrom ve ark. 2007). Farklılıkların nedeni olarak çalışmalarda kullanılan farklı örnekleme metodları, örneğin zenginleştirme yöntemleri ve doğrudan kültür ve dışkı örneklerinden daha yüksek izolasyon oranı veren bağırsak örnekleri ve ayrıca farklı kaz türlerinden örnek alınmasıyla kısmen açıklanabilir (Stanley ve ark. 1998).

### 3. MATERYALVE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Çalışma Materyali

###### 3.1.1.1. Çalışma Yasal İzni

Çalışmanın etik kurul izni, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulunun 2019 tarihli ve 2019-124 numaralı karar ile onaylanmıştır.

###### 3.1.1.2. Çalışma Alanı

Bu çalışma Doğu Anadolu Bölgesi'nin kuzeydoğusunda yer alan Kars İli sınırları içerisinde yapılmıştır. Rakımı ortalama 2000 metreyi bulan Kars arazisinin büyük bölümü yaylalardan oluşur. Akarsu vadileriyle yer yer parçalanan yörede yaylalar dalgalı düzlüklerden oluşur. Kars ilinin yüzölçümü 10.139 km<sup>2</sup> olan 8 ilçesi, 10 belediyesi ve 381 köyü bulunmaktadır (Anonim1).

Türkiye'de kaz yetiştiriciliği iklimin daha soğuk, temiz akarsu kaynaklarının var olduğu ve çayır alanlarının geniş olduğu yörelerde aile tipi işletmeciliği şeklinde yapılmaktadır (Boz ve Sarıca 2018). Türkiye kaz varlığı içinde Kars ili, 274.157 kaz sayısı ve %27 popülasyon oranı ile en büyük paya sahiptir (Anonim 2).

###### 3.1.1.3. Hayvan Kaynağı ve Çalışma Planı

Kars ili merkez ve ilçelere bağlı aile tipi işletmelerden Ocak-Ekim 2020 tarihleri arasında sağlıklı görünüşlü 400 kaza ait kloakal sıvıap örneği çalışmaya dâhil edildi.

###### 3.1.1.4. Örnekleme

Bu çalışmada Kars merkez ve merkeze bağlı köylerde bulunan kazlardan hedeflenen örnek sayısına ulaşmak için küme örnekleme yöntemi ile örnekleme yapıldı. Termofilik Kampilobakterlerin kazlardaki prevelans oranları sırasıyla %50,4 ve %61,9 alındı (Colles 2008, Elmalı 2004) . Çalışmada örnek miktarı, Kars ilinde

var olan 274.157 kaz popülasyonundan, %95 güven aralığı ve %5 kesinlik derecesi ile 384 olarak hesaplandı (Anonim 3).

Termofilik Kampilobakter tür izolasyonunun mevsimsel dağılımını değerlendirmek amacıyla 2020 Ocak ayından başlamak üzere 2020 Ekim ayına kadar her ay 40 örnek olmak üzere toplamda 400 kaz kloakal sıvap örneği alındı. Ayrıca kazlardaki termofilik Kampilobakter türlerin kolonizasyon zamanını belirlemek için Mayıs ayında yapılan örnekleme 7, 15, 21 ve 30 günlük kaz palazlarından ve devam eden dönemde 45, 60, 90 ve üstü kazlardan örnekleme yapıldı. Alınan bütün sıvap örnekleri içerisinde 7 ml Modifiye Carry-Blair besiyeri bulunan vida kapaklı tüplere aktarıldı ve etiketlenerek +4°C’de saklandı. Örneklerin etiketlenmesi ve örneklenen hayvana ait epidemiyolojik bilgilerin kaydını takiben soğuk zincir altında (2-8 °C) Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarlarına ulaştırıldı.

### 3.1.2. Örneklerden Etken İzolasyonu İçin Gerekli Materyaller

#### 3.1.2.1. Taşınma Besiyeri

Kloakal sıvap örneklerinin toplanmasında ve laboratuvara taşınmasında incelenecek bakterinin canlılığını muhafaza etmek için Modifiye Cary-Blair Besiyeri kullanıldı. Besiyeri içeriği Tablo 10’de gösterilmiştir.

**Tablo 10.** Modifiye Carry- Blair Besiyeri içeriği.

Bileşimi	Miktar (g/l)
Sodyum tiyoglukolat	1.5 g
Disodyum fosfat	1.1 g
Sodyum klorid	5.0 g
Fenol red	0.003
Agar	1.6 g
distile su	991 mL

**Hazırlanışı:** Balon içerisinde maddeler sıcak su banyosunda 56 °C’de ısıtılarak eritildi, pH 8,4’e ayarlanıp içerisinde tahta çubuklu pamuklu eküvyon bulunan steril cam tüplere, herbirinde 7 ml besiyeri olacak şekilde paylaştırıldı ve otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi. Kullanılincaya kadar +4°C’de saklandı.



### 3.1.2.2. Üretim Besiyerleri

Kaz kloakal sıvı örneklerinden termofilik kampilobakter türlerinin izolasyonu amacıyla Preston Broth ön zenginleştirme besiyeri ve Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate Agar (mCCDA) selektif besiyeri kullanıldı.

#### 3.1.2.2.1. Preston Broth Ön Zenginleştirme Besiyerinin İçeriği

Termofilik kampilobakter izolasyonunu arttırmak için alınan kaz kloakal sıvı örnekleri; Brucella Broth (SIGMA-ALDRICH-B3051) ve *Campylobacter* Selective Supplement (Oxoid, SR204E) - *Campylobacter* Growth Supplement (OXOID, SR0232E) antibiyotik kombinasyonlarından oluşan Preston Broth ön zenginleştirme besiyeri kullanıldı. Brucella Broth, standart mikrobiyolojik analiz için içerisinde inhibitör madde bulunmayan ve amaca göre ilave maddelerle selektiflik kazanan bir besiyeridir. Preston *Campylobacter* Selective Supplement; dışkı florasında aranan etken dışındaki mikroorganizmaları baskılamak içerisinde antibiyotikler bulunmaktadır. *Campylobacter* Growth Supplement ise alınan örnekteki kampilobakterlerin gelişmesi ve üremesi için gerekli besinleri içermektedir. Tablo 11, 12 ve 13 'te ön zenginleştirmede kullanılan materyallerin içerikleri verilmiştir.

**Tablo 11.** Brucella Broth içeriği.

Bileşimi	Miktar g/l
Enzimatik kazein hidrolizati	10
Peptik hayvan dokusu özütü	10
Maya ekstratı	2
Dekstroz	1
Sodyum bi klorid	5
Sodyum bisülfid	0,1
Ph	7.0 +/- 0.2 25°C

**Hazırlanışı:** Brucella Broth hazır besiyerinden 14,05 g tartılarak 500 ml distile suda çözdürüldü ve sıcak su banyosunda 56 °C'de tamamen eritildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Besiyeri otoklav çıkışında 45-50 °C'ye soğutuldu, %7'lik defibrine at kanı Preston *Campylobacter* Selective Supplement ve

*Campylobacter* Growth Supplement ilave edilerek karıştırıldı. Steril cam tüplere 5-7 ml dağıtılarak +4 °C’de ön zenginleştirme besiyeri amacıyla kullanıldı.

**Tablo 12.** Preston *Campylobacter* Selective Supplement içeriği.

Bileşimi	Miktar
Polimiksin B	2500IU
Rifampisin	5,0 mg
Trimetoprim	5,0 mg
Amfotericin B	5,0 mg

**Hazırlanışı:** 1 vial Preston *Campylobacter* Selective Supplement 2 ml distile su içerisinde çözdürüldü. Ön zenginleştirme besiyerinde istenmeyen mikroorganizmaların engellenmesi amacıyla kullanıldı.

**Tablo 13.** *Campylobacter* Growth Supplement içeriği.

Bileşimi	Miktar
Sodyum piruvat	0,125 g
Ferröz sülfat	0,125 g
Sodyum metabisülfat	0,125 g

**Hazırlanışı:** *Campylobacter* Growth Supplement içeren 1 vial, 2 ml distile su içerisinde çözdürüldü. Ön zenginleştirme besiyerinde Kampilobakterlerin gelişmesi ve daha yoğun üremeleri amacıyla kullanıldı.

### 3.1.2.2.2. Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate Agar (mCCDA) Selektif Besiyeri

Termofilik Kampilobakter türlerinin izolasyonu amacıyla ticari olarak temin edilen mCCDA (*Campylobacter* Blood Free Selective Agar- Oxoid CM739, İngiltere) agar kullanıldı. Agar içerisine, etken dışındaki Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerle, mikolitik etkenlerin üremesini engelleyen antibiyotik ve antifungal içerikli CCDA Selective Supplement (Oxoid SR155E) ilave edildi. Agar ve antibiyotik solüsyon içerikleri Tablo 14 ve 15’ da verilmiştir.

**Tablo 14.** m CCDA besiyeri içeriği.

Bileşimi	Miktar (g/l)
Nutrient Broth No.2	25,0 g
Bakteriyolojik charcoal	4,0 g
Kazein hidrolizat	3,0 g
Sodyum deoksikolat	1.0 g
Ferröz sülfat	0,25 g
Sodyum pirüvat	0,25 g
Agar	12,0 g
Distile su	1000 ml

**Hazırlanışı:** Modified CCDA hazır besiyerinden 22,75 g tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde 56 °C’de sıcak su banyosunda eritildi. 121 °C’de 15 dk otoklavda sterilizasyonu sağlandıktan sonra 50 °C’ye kadar soğutuldu. İçerisine antibiyotik solüsyon ilave edilerek plastik petri kaplarına 12-15 ml döküldü. Hazırlanmış besiyeri +4 °C’de saklanarak kültürel işlemler için kullanıldı.

**Tablo 15.** Antibiyotik Solusyon (CCDA Selective Supplement) içeriği.

Bileşim	Miktar
Sefaperazon	16,mg
Amfoterisin B	5,0 mg

**Hazırlanışı:** 1 vial CCDA Selective Supplement, 2 ml steril distile su içinde çözdürülerek etken dışı mikroorganizmaların baskılanması için selektif besiyerine eklendi.

### 3.1.2.2.3. %7 Koyun Kanlı Agar İçeriği ve Hazırlanışı

Mikroorganizmaların geliştirilmesi ve hemoliz reaksiyonlarının belirlenmesinde genellikle taze koyun kanı ilave edilerek hazırlanan dehidre besiyeri (Oxoid, CM271, İngiltere) kullanılmaktadır. Çalışmada, mCCDA selektif besiyerinde izole edilen şüpheli Kampilobakterlerin saflaştırılması amacı ile kullanıldı. Besiyeri içeriği Tablo 16’ de verilmiştir.

**Tablo 16.** Blood Agar Base no:2 besiyeri içeriği.

Bileşimi	Miktar (g/l)
Proteaz pepton	15
Karaciğer özütü	2,5
Maya ekstraktı	5
Sodyum klorür	5
Agar	12
Distile su	1000 ml

**Hazırlanışı:** Besiyerinden 40 gr tartılarak üzerine 1000 ml distile su eklendi ve sıcak su banyosunda 56° C’de çözünmesi sağlandı. Otoklavda 121 °C ‘de 15 dk steril edildi. Daha sonra 50° C’ye kadar soğutuldu ve %7 koyun kanı katılarak petri kutularına 12-15 ml dağıtıldıktan sonra kullanılıncaya kadar buzdolabında +4° C ‘de muhafaza edildi.

### 3.1.3. Termofilik Kampilobakter Etkenlerinin Kültürel İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyaller

Termofilik Kampilobakterlerin selektif besiyerine ekimi ve üremesinin ardından mikroskopta morfolojilerini incelemek için Gram boyama yapıldı. Mikroskopta şüpheli görülen izolatlar fenotipik testler uygulanarak tür bazında tanımlama yapıldı. Termofilik Kampilobakter şüpheli izolatlar %20’lik Gliserinli Brucella Broth (Sigma, B3051) içerisine aktarılarak moleküler analizler için -20 °C ve -80 °C’de saklandı.

#### 3.1.3.1 Gram Boyama

Bakterilerin hücre duvarlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerine sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında yaygın kullanılan, Gram negatif ve Gram pozitif ayırımını yapan bileşik boyama yöntemidir. Bu çalışmada ticari Gram boyama seti (Merck, 111885) kullanıldı. Set içerisinde; Kristal viyole (tüm bakterilerin hücre duvarı boyanmasın da kullanılır), Lügol solüsyonu (boya-iyot kompleksi oluşmasını sağlar), %96’lık etil alkol (Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki boyayı giderirken, Gram pozitif bakteriler rengi sabit kalır) ve sulu

fuksin (Gram negatif bakterileri pembe renk görünümünü sağlamak için kullanılır) yer almaktadır (Anonim 6).

### **3.1.3.2 Biyokimyasal Testler ve Ayırıcıları**

Rutin laboratuvarlarda çoğunlukla termofilik *Kampilobakter*lerin ayrımı için bazı biyokimyasal testler kullanılmaktadır. *C. jejuni* ve *C. coli*' nin rutin identifikasyonu; nonhemolitik koloniler ve karakteristik morfolojileri, tirbişon veya burgu hareketi, Gram negatif eğik ve spiral formlar (bazen kokoid formda olabilir), 43 °C'de üreme, 25 °C'de ürememe, katalaz ve oksidaz pozitivitesi, Nalidik asit'e duyarlılık Sefalotin'e dirençlilik kriterleri ile yapılmaktadır (Anonim 6).

#### **3.1.3.2.1. Hareket Muayenesi**

Şüpheli izolatların hareketlerini gözlemlmek amacıyla 24-48 saatlik taze kültür örnekleri lam-lamel arası hareket muayenesi yöntemi ile incelendi (Anonim 6).

#### **3.1.3.2.2. Oksidaz test kiti**

Oksidaz testi, sitokrom oksidaz enziminin gösterilmesi amacıyla kullanılır. Oksidaz pozitif ve negatif organizmaların ayrımı ilk tanımlamada önemli bir basamak olduğu için oksidaz testinin doğru bir şekilde yapılması da kritik önemdedir. Öze ile şüpheli koloniden bir miktar alınarak oksidaz kit üzerine sürülür ve mor renk oluşumu pozitif değerlendirilir (Anonim 6). Bu amaçla Ticari Oksidaz test kitleri (MERCK, 30 ml) kullanıldı.

#### **3.1.3.2.3. Katalaz Test Ayırıcı**

3 ml %30'luk hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) (MERCK, 30 ml), 27 ml distile su ile karıştırılarak %3'lük  $H_2O_2$  solüsyonu hazırlandı. Sıvı veya katı bakteri kültürlerine  $H_2O_2$  ilave edildiğinde, serbest oksijenin gaz kabarcıkları halinde gözlenir hale gelmesi, hidrojen peroksitin ayrışmasını, dolayısıyla da katalazın varlığını gösterir (Anonim 6).

#### 3.1.3.2.4. Hippurat Hidroliz Testi

1,0 g Hippuric asit ve 100 g distile su filtrasyon yöntemi ile sterilize edilerek %1'lik sodyum hippurat solüsyonu hazırlanarak steril tüplere paylaştırılarak – 20°C'de muhafaza edildi. Daha sonra 3,5 g ninhidrin, 50 ml aseton ve 50 ml bütanol kullanılarak % 3,5 ninhidrin solüsyonu hazırlandı (Harvey 1980). Bu çalışmada, *Campylobacter jejuni* tanımlanmasında kullanıldı.

#### 3.1.3.2.5. İndoksil Asetat Testi

Termofilik Kampilobakter türlerden *C. jejuni* ve *C. coli*'yi (pozitif), *C. lari* (negatif)'den ayırt etmek amacıyla geliştirilmiştir. İndoksil, barsaklarında bakteriyel esterazlarla bir triptofan ürününün putrefaktif dekompozisyonudur. Bu enzimin varlığı in vitro olarak indoksil asetatın bakteriyel hidrolizi ve indoksilin açığa çıkması ile gösterilmektedir. İndoksil, daha sonra oksijenle birleşir ve kendiliğinden indigoya dönüşür (York 2007). *C. lari* (negatif)'yi, *C. coli* (pozitif)'den ayırt etmek için ticari İndoksil asetat test stribi (Fluka) kullanıldı.

#### 3.1.3.2.6. Nalidik Asit ve Sefalotin Antibiyotik Duyarlılık Testi

Nalidik asit (OXOID, 30 µg) ve Sefalotin (OXOID,30 µg) antibiyotik diskler duyarlılık ve dirençlilik kriterlerine bakılarak termofilik kampilobakterlerin tür ayırımında kullanıldı (Anonim 6).

#### 3.1.4. Etkenin Moleküler İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyaller

Bu çalışmada, etken izolasyonunu takiben konvansiyonel teknikler ve eş zamanlı identifikasyonu amacıyla mulltiplik PZR (m-PZR) yöntemi kullanıldı.

##### 3.1.4.1. Moleküler İdentifikasyon İçin Kullanılan Araç, Gereç ve Cihazlar

- Otomatik Pipet Seti (Gilson) (10, 20, 100, 200, 1000 µl' lik)
- Termal cycler (Bio- Rad, MJ Mini Gradient Thermal Cycler, PTC- 1148)
- UV transilluminatör (UVP, 3UVT- Benchtop, LMS- 20E)
- Elektroforezis ünitesi (Bio- Rad, Mini- sub cell gt)
- Vortex (Heidolph Reax top, 01799- 513320)

- Laminar flow kabin (Nüve, LN120)
- Derin dondurucu (Uğur)
- DNA ekstraksiyon reaktifi: Tek koloni lizis buffer (SCLB) (Tris- EDTA buffer, pH 7.4, 5 mg/ml Proteinaz K)
- Bakteri standart suşları: PCR analizlerinde pozitif kontrol olarak Anabilim Dalımız kültür koleksiyonuna ait ve tanımlanmış termofilik kampilobakter suşları ve bunlara ait DNA ekstraktlarından faydalanıldı.

#### **3.1.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Reaktifleri**

- Taq DNA Polymeraz Seti (Thermo-Scientific)
- 10xPCR Buffer: 100 mM Tris- HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM
- MgCl<sub>2</sub> ve %0.01 Jelatin (Thermo-Scientific)
- dNTP Miks (10 mM) (Thermo-Scientific)
- RNase/RNase ari su (Sigma, W1754)
- Mineral yağ (Sigma, M8662)
- Primerler (Kampilobakter tür spesifik PCR primerleri ) (Oligomer)

#### **3.1.4.3. Elektroforez Aşamasında Kullanılan Kimyasallar**

- Tris- Borik Asit- EDTA (Sigma, 1061772500)
- Agaroz (Sigma, A9539)
- DNA Ladder (Bioline, Hyperladder, 100 bp, 1 kb)
- Etidyum bromid (Sigma, E1510- 10 ml)

#### **3.1.5. MALDI-TOF MS (Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı-kütle spektrometrisi)**

Etkenin kütle spektrometrisi ile tanımlanması Malatya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalında MALDI-TOF MS (VİTEK MS, BİOMERİUX) mikroorganizma tanımlama cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

MALDI-TOF MS cihazı mikroorganizmaların protein profillerini çıkarmakta ve veri tabanındaki referans organizmaya uyumuna göre çok kısa bir sürede mikroorganizma cins ve tür bazında tanımlanmaktadır (Seng ve ark. 2009). Bu cihaz

ile tiplendirmede bakteri proteinin büyüklüğüne bağlı olarak bir seri biyokimyasal madde kullanır. Cihazda yer alan 4 palette 48 kuyu ve 3 kontrol kuyusu vardır. Bu palet kuyucuklarına hazırlanan kurutulmuş kimyasal substratlı saf kültürler üretici firmanın kullanım talimatlarını uygun olarak cihaza yerleştirilir ve değerlendirme yapılır. Çalışmamızda MALDI-TOF MS ile etken analizinde, sağlam proteinler ve çapraz bağlanmış protein komplekslerinin incelemesinde  $\alpha$ -CHCA ( $\alpha$ -siyano-4-hidroksisinamik asit, Biomeriux) matriks solüsyonu kullanıldı.

### 3.1.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri İçin Gerekli Materyaller

Bu çalışmada, antimikrobiyal madde olarak Azitromisin (15 $\mu$ g), Tetrasiklin (30 $\mu$ g), Siprofloksasin (15 $\mu$ g), Gentamisin (10 $\mu$ g) ve Ampisilin (10 $\mu$ g) antibiyotik diskleri (OXOID) kullanıldı. Etkenin antibiyotik duyarlılıkların belirlenmesi için hazırlanan bakteri kültürü Mc Farland 0,5 ( $10^8$  mikroorganizma / ml)' e göre ayarlandı. %7 koyun kanlı Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerine ekim yapılarak, inkübasyon sonrası oluşan zon çapları CLSI-2017 kriterlerine göre değerlendirildi. Mueller- Hinton Besiyerinin içeriği Tablo 17'de verilmiştir.

**Hazırlanışı:** Hazır besiyeri, 38,0 g/L konsantrasyonda 1000 ml distile su içinde 56° C' ye ısıtılarak eritildi. Otoklavda 121° C' de 15 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına 12,5'er mL döküldü. Zor gelişen mikroorganizmaların gelişimini arttırmak için %7 koyun kanı, besiyerin otoklav çıkışını takiben 45-50° C' ye soğutuldu ve kan ilave edildi.

**Tablo 17.** Mueller- Hinton besiyeri içeriği.

Bileşimi	Miktarı (g/l)
Sığır eti ekstratı	300
Kazein hidrolizat	17,5
Nişasta	1,5
Agar	17
Su	1000

### 3.1.7. Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Analizi İçin Gerekli Materyaller

Bu çalışmada, kaz kloakal sıvay örneklerinden izole edilen termofilik Kampilobakter türlerinden Tetrasiklin dirençliliği için *tetO*, Gentamisin dirençliliği



için *aphA-3*, Ampisilin dirençliliği için *bla<sub>OXA-61</sub>*, Azitromisin dirençliliği için *ermB* ve Siprofloksasin dirençliliği için ise *gyrA* genlerinin spesifik primerleri kullanılarak analizleri PZR temelli moleküler tekniklerle gerçekleştirildi. Bu amaçla, katı besiyerlerinde üretilen ve saflaştırılan kolonilerden tanımlanan bakterilerden elde edilen DNA 'lar kullanıldı.

### 3.1.8. İstatiksel Veri Analizi İçin Gerekli Materyaller

İstatiksel analiz için SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. İki veri değeri arasındaki oransal dağılımın istatistiksel karşılaştırılmasında Mann-Whitney Test; üç ve üzeri veri değerleri arasındaki oransal dağılımın istatistiksel karşılaştırılmalarında ise Kruskal-Wallis Test yönteminden faydalanıldı.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Örneklerin Alınması ve Taşınması

Kars il merkez ve ilçelere ait köylerde aile tipi kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmelerden, klinik olarak sağlıklı görünüşlü 400 kaza ait dışkı bulaşık kloakal sıvap örneği alındı. Örnekler, içerisinde 7 ml Modifiye Cary-Blair besiyeri içeren vida kapaklı tüpler konularak soğuk zincir altında 3-4 saat içerisinde Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarına getirildi. Örneklerin kültürel analizi günlük gerçekleştirildi.

### 3.2.2. Etken Ön Zenginleştirme Yöntemi

Cary-Blair taşıma besiyerine alınan kloakal sıvap örnekleri, *Campylobacter* Growth Supplement ve Preston *Campylobacter* Selective Supplement ilaveli 5 ml Brucella Broth içeren cam tüplere transfer edildi. Tüpler, % 10 CO<sub>2</sub>, % 5 H<sub>2</sub> ve % 85 N<sub>2</sub>' den oluşan mikroaerofilik atmosfer oluşturan anaerobik jar içerisine yerleştirildi. Tüpler 42 °C'de, mikroaerobik şartlarda ve 48-72 saat inkübasyona bırakıldı. Alınan tüm örneklerde, termofilik Kampilobakter türlerinin izolasyon ve identifikasyonda zenginleştirme işlemine dayalı ISO (The International Organization for Standardization, 10272) yöntemi kullanılmıştır (Anonim 5).

### 3.2.3. Etken İzolasyon Yöntemi

Ön zenginleştirme besiyerinden 20 µl alınarak, *Campylobacter* Selektif Supplement ilave edilmiş mCCDA agar besiyerine tek kullanımlık plastik öze kullanılarak tek koloni düşecek şekilde ekildi. Besiyeri plakları anaerobik jar içerisinde, % 10 CO<sub>2</sub>, % 5 H<sub>2</sub> ve % 85 N<sub>2</sub>' den oluşan mikroaerofilik atmosfer de 42 °C'de inkübe edildi. Ekim yapılan plaklarının tamamı, 48-72 saat süre inkübasyonun ardından kampilobakter üremesi yönünden değerlendirildi. Üremenin olmadığı plateler tekrar kapatıldı ve her gün üreme yönünden kontrol edilerek 5 gün süre ile inkübasyona devam edildi. Bu sürenin sonunda üreme görülmeyen plaklar atıldı.

### 3.2.4. Kültürel Yöntemlerle Etken İdentifikasyonu

Inkübasyon sonrası mCCDA besiyerinde, 0.5 mm çapında, grimsi renkte, bazen metalik refle veren, düz yüzeyli ancak yayılma eğilimi gösteren koloniler Kampilobakter yönünden şüpheli olarak değerlendirildi. Şüpheli izolatların kolonilerden hazırlanan yayma preparasyonlar, Gram boyama ile boyandı ve ışık mikroskopunda X100 büyütmede incelendi. Mikroskopta Gram negatif, kıvrımlı veya virgül şeklinde görülen koloniler Kampilobakter ön tanısı ile ileri identifikasyon çalışmaları için saf olarak elde edilmek üzere %7 'lik koyun kanlı agar besiyerine pasajlandı. Pasajda saf olarak üreyen şüpheli termofilik Kampilobakter kolonileri fenotipik identifikasyon amacı ile oksidaz ve katalaz aktivitelerine ek olarak, hippurik asidi hidrolize edebilme yeteneğinin tespiti için, hippurat hidrolizi, indoksil asetat testi ve seçici antibiyotiklere toleranslarının tespiti içinde disk diffüzyon yöntemi ile Nalidik asit ve Sefalotin dirençliliği yönünden değerlendirildi (Anonim 6).

#### 3.2.4.1. Hareket Testi

Hareket muayanesi testi için lam-lamel arası hareket muayanesi yöntemi seçildi. Bunun için fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon haline getirilen etken mikroorganizma mikroskopta incelendi. Tipik morfolojiyle beraber hareketliliğin tespiti, pozitiflik olarak değerlendirildi (Anonim 6).

#### 3.2.4.2. Oksidaz Testi

Kampilobakter şüpheli kolonilerin oksidaz aktivitesi ticari oksidaz test şeritleri ile gerçekleştirildi. Kanlı agarda üreyen koloniler steril bir öze ile alınıp ticari oksidaz test striplerine sürüldü. 1-2 dakika içerisinde koyu menekşe moru renk oksidaz pozitif olarak değerlendirildi (Anonim 6).

#### 3.2.4.3. Katalaz Testi

Kampilobakter şüpheli kolonilerin katalaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) çözeltilisi ile değerlendirildi. Kanlı agarda üreyen koloniler steril bir öze ile alınıp temiz bir lam üzerindeki %3'lük hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) çözeltilisine süspanse edildi. 30 saniye içerisinde hava kabarcıklarının görülmesi katalaz reaksiyonu pozitif olarak değerlendirildi (Anonim 6).

#### 3.2.4.4. Hippurat Hidroliz Testi

*C. jejuni*'de bulunan hippurat hidrolaz (hippurilase) enzimi Sodyum hippuratu parçalayarak benzoik asit ve glisin'e yıkmasını takiben oksitleyici bir ajan olan ninhidrinin ilavesi ile glisin indirgenir. Ortamın koyu mavi veya mor renge dönüşümü pozitif olarak değerlendirilir (Pratt ve ark., 1992). Hippurat testi için kanlı agarda üreyen şüpheli kampilobakter kolonilerinden bir öze dolusu alınarak 0,4 ml sodyum hippurat içeren tüp içerisine inoküle edildi ve 37° C'de 2 saat inkübe edildi. Etüvden çıkarılan bakteri-hippurat karışımı olan tüplerin içine 4 damla ninhidrin ayracı damlatıldı ve tekrar 37° C'de 30 dakika inkübasyona alındı. İnkübasyon sonrası tüplerin üst kısımlarında koyu mor renk oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi. Açık menekşe rengi ya da renk görülmemesi ise negatif olarak değerlendirildi (Anonim 6).

#### 3.2.4.5. İndoksil Asetat Hidroliz Testi

Kanlı agarda üreyen şüpheli Kampilobakter kolonilerinden bir öze ile alınıp ticari indoksil asetat stribi üzerine sürülerek üzerine 1 damla distile su damlatıldı. 5-10 dakika sonra koyu mavi renk değişimi görülmesi pozitif, renk değişimi görülmemesi negatif olarak değerlendirildi (Norris ve Robbins 1971).

### 3.2.4.6. Nalidik Asit ve Sefalotin Duyarlılık Testi

Kanlı agar besiyerinde üreyen, termofilik *Kampilobakter* tanımlı kolonilerden bir öze dolusu alınarak serum fizyolojik içerisinde Mc Farland 0,5 ( $10^8$  mikroorganizma / ml) bulanıklık standardına eşdeğer yoğunlukta bakteri süspansiyonu elde edilene kadar homojenize edildi. Bakteri süspansiyonu içerisine daldırılıp 1-2 dakika bekletilen pamuklu öze, fazla sıvının bırakılması için tüp kenarına bastırılarak çıkartıldı ve antibiyotik ilave edilmemiş % 7 koyun kanı içeren Mueller-Hinton Agar besiyerinin yüzeyine sürüldü. Besiyerlerinin yüzeyinde artık sıvı besiyerinin kalmamasına dikkat edildikten sonra besiyeri yüzeyine en az 4 cm aralıklarla, 30 µg Nalidik asit ve 30 µg Sefalotin içeren diskler steril bir pens yardımı ile yerleştirildi. Besiyerleri mikroaerofilik atmosferde, 42°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda disk etrafında inhibisyon zon çapları cetvelle ölçüldü. Nalidik asit için 10 mm ve üzeri, Sefalotin için 14 mm ve üzeri çapa sahip koloniler o antibiyotik için duyarlı olarak değerlendirildi.

### 3.2.5. Moleküler Yöntemlerle Etken Analizi

Kaz kloakal sıvı örneklerinden termofilik *Kampilobakter*lerin mutlak moleküler analizi PZR ile gerçekleştirildi. Bu amaçla, etkenlere ait nükleik asit eldesi katı besiyerinde üreyen ve saflaştırılan termofilik *Kampilobakter* şüpheli koloniler kullanıldı.

#### 3.2.5.1. DNA Ekstraksiyonu

*Kampilobakter* şüpheli kolonilerinden DNA ekstraksiyonu için tek koloni lizis buffer solüsyonu (SCLB) kullanılarak ısı işlem yöntemi ile gerçekleştirildi (Mamur 1961). Yöntem, hücrelerin lizis solüsyonu yardımıyla lize edilmesi, DNA, RNA ve proteinlerin açığa çıkması, proteinlerin çöktürülmesi sonrasında DNA'nın izolasyonu prensibine dayanmaktadır.

Kanlı agarda üreyen kolonilerden steril bir öze ile tek bir koloni alınarak içerisinde 40 µl SCLB solüsyonu içeren 0.2 ml'lik PZR tüplerine süspanse edildi. Bakteri – SCLB içeren tüpler gradient ısı makinasına yerleştirildi. Tek siklus halinde; 80 °C'de 10 dk, 55 °C'de 10 dk ve +4 °C 'de 10 dk şeklinde ısı işlemi tabi tutuldu.

Süre sonunda tüplere 80 µl nükleaz ari su katıldı ve tüpler 7000 devirde (rpm) 2,5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası supernant kısımdan 80 µl toplanarak kalıp DNA olarak kullanıldı.

### 3.2.5.2. mPZR Analizi

Termofilik Kampilobakter türlerinin moleküler tanımlaması amacıyla Wang ve ark. (2002) tarafından bildirilen multiplik polimeraz zincir reaksiyon (mPZR) yöntemi uygulandı. Bu amaçla, her bir örnek için toplam PZR hacmi 25 µl olacak şekilde; 2.5 µl kalıp DNA örneği, 2,5 µl 10x PCR buffer, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP miks, 0,5 µM *C. jejuni* ve *C. lari*; 1 µM *C. coli*, 2 µM *C. upsaliensis* primer çifti ve 1.25 U Taq polimeraz bileşenlerinden oluşturuldu. PZR'nin termal döngüsü, 95 °C'de 6 dk ilk denatürasyon, takiben 30 döngü olmak üzere, 95 °C'de 30 sn denatürasyon, 59 °C'de 30 sn primer bağlanması ve 72 °C'de 30 sn uzama ve en son 72 °C'de 7 dk son uzama olarak gerçekleştirildi. Tablo 18'de görüldüğü üzere termofilik Kampilobakter türlerin primer dizini ve amplifiye ürünlerin beklenen bant büyüklükleri gösterilmiştir.

**Tablo 18.** mPZR'de kullanılan primer çiftleri ve beklenen bant büyüklükleri.

Hedef gen	Primer dizini (5'-3')	Bant büyüklüğü	Kaynak
<i>C. jejuni</i> ( <i>hipO</i> )	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC GCCACAACAAGTAAAGAAGC	323 bp	Wang ve ark.2002
<i>C. Coli</i> ( <i>glyA</i> )	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG TCCAGCAATGTGTGCAATG	126 bp	Wang ve ark.2002
<i>C. lari</i> ( <i>glyA</i> )	TAGAGAGATAGCAAAAGAGA TACACATAATAATCCCACCC	251 bp	Wang ve ark.2002
<i>C. upsaliensis</i> ( <i>glyA</i> )	AATTGAAACTCTTGCTATCC TCATACATTTTACCCGAGCT	204 bp	Wang ve ark.2002

### 3.2.5.3. Elektroforez Yöntemi

Termofilik kampilobakter türlerine ait amplifiye ürünlerin görüntülenmesi ve analizi amacıyla yatay jel elektroforez tekniği uygulandı. PZR ürünleri, etidyum bromür ile boyanan %1,5 agaroz jel kuyucuklarına konularak 1xTBE buffer solüsyonu içeren elektroforez tankı içerisinde 100 volt ve 400 miliamperde 35 dakika

yürütüldü. Oluşan bantlar 100 bp plus DNA standartı ile kıyaslandı ve DNA fragmentleri UV transilluminatörde (UVP/LMS- 20E) görüntülenerek fotoğraflandı. Kampilobakter tür spesifik primer çiftleri ile yapılan PZR'de *C. jejuni* için 323 bp, *C. coli* için 126 bp, *C. lari* için 251 bp ve *C. upsaliensis* için 204 bp boyutundaki amplifiye ürünlerin varlığı termofilik Kampilobakter türleri olarak değerlendirildi.

### 3.2.6. MALDI-TOF MS Analizi

Termofilik Kampilobakter olarak tanımlanan ve %20'lik Gliserinli Broth içinde -80'de saklanan izolatlar, kanlı agar besiyerine tekrar ekim yapılarak canlandırıldı. 42 °C'de mikroaerofilik şartlarda inkübasyonu yapılarak 24 saatlik taze bakteri kültürleri hazırlandı. MALDI-TOF MS identifikasyonunda önemli basamaklardan biri taze kültür kullanılmasıdır. Kanlı agarda üreyen taze kültürler ait kolonilerden steril bir öze ile alınarak palet kuyucuklarının içini tamamen dolduracak şekilde yayıldı. Daha sonra kuyucuk üzerine 1 µl  $\alpha$ -CHCA ( $\alpha$ -siyano-4-hidroksisinamik asit) matrix solüsyonu ilave edildi ve kurutuldu. Hazırlanan palet, tanımlama işlemi için MALDI-TOF MS cihazına yerleştirildi. Kısa bir tanımlama süresi sonunda %99,9 oranında termofilik Kampilobakter türü olarak tanımlanan bakteriler pozitif değerlendirildi (Bessède 2010).

### 3.2.7. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemi ile Belirlenmesi

Termofilik Kampilobakter suşlarının antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlendi (Taremi ve ark. 2006). Bu amaçla, %7 koyun kanı ilaveli Muller-Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanıldı. Kampilobakter türlerinin 42° C'de mikroaerofilik ortamda 48-72 saatlik taze kültürleri hazırlandı. Bakteri inokulumunun yoğunlukları, steril fizyolojik su ile McFarland 0,5 ( $10^8$  mikroorganizma / ml) standartına göre ayarlandı. Hazırlanan bakteri inokulumundan 100 µl alınarak MHA besiyerine aktarıldı ve steril plastik baget ile yayılarak ekim yapıldı. Bakteri ekilen besiyerleri oda ısısında 10 dk bekletildikten sonra besiyerine 1,5-2 cm uzaklıkta olacak şekilde Azitromisin (15 µg), Tetrasiklin (30 µg), Siprofloksasin (5 µg), Gentamisin (10 µg) ve Ampisilin (10 µg) antibiyotik diskleri steril pens yardımıyla yerleştirildi. Disk yerleştirilen besiyerleri mikroaerofilik

şartlarda 42 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Tablo 19’de belirtildiği gibi İnkübasyon sonunda antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek duyarlılık, dirençlilik değerlendirilmesi CLSI 2017 kriterlerine göre yapıldı. Kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC®\* 25922, *P. aeruginosa* ATCC® 27853 ve *E. coli* ATCC® 35218 kullanıldı (CLSI,2017).

**Tablo 19.** Kampilobakterler için disk difüzyon test sınır değer tablosu.

Antibiyotik Diskler	Disk İçeriği (µg)	Zon çapı sınır değeri		
		S	I	R
Azitromisin	15	≥15	13-14	≤12
Siprofloksasin	5	≥21	16-20	≤15
Gentamisin	10	≥15	13-14	≤12
Tetrasiklin	30	≥15	Ara.14	≤11
Ampisilin	10	≥17	14-16	≤13

S: Duyarlı I: Orta derecede duyarlı R: Dirençli

### 3.2.8. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının Direnç Genlerinin Moleküler Analizi

Termofilik kampilobakter suşları arasında Ampisilin, Tetrasiklin, Gentamisin, Siprofloksasin ve Azitromisin antibiyotiklerinde dirence yol açan yaygın direnç genlerinin (*bla<sub>oxa61</sub>*, *tet(O)*, *aph3-1*, *gyrA* ve *ermB*) analizleri PZR ile gerçekleştirildi. PZR için ihtiyaç duyulan total DNA ekstraksiyonu SCLB aracılı ısı işlem metodu kullanılarak gerçekleştirildi (Mamur 1961). Tablo 20’de tüm direnç genleri için üniform olan PZR reaksiyon bileşenleri verilmiştir.

**Tablo 20.** Termofilik Kampilobakter analizi için reaksiyon bileşenleri.

Bileşen	Miktar (25 µl toplam hacim için)
10xPCR buffer	2,5 µl
dNTP miks (10 mm)	0,5 µl
Primer F (10 pmol)	1 µl
Primer R (10 pmol)	1 µl
Taq polimeraz	0,5 µl
H <sub>2</sub> O	16,5 µl
DNA	3 µl

Bu kapsamda Tetrasiklin dirençliliği için *tetO*, Gentamisin dirençliliği için *aphA-3*, Ampisilin dirençliliği için *bla<sub>OXA-61</sub>*, Azitromisin dirençliliği için *ermB* ve Siprofloksasin dirençliliği için *gyrA* genlerinin analizleri yapıldı. PCR işlemi, 94° C'de 10 dakika süreyle ilk denatürasyondan sonra 30 döngü olacak şekilde; 94° C'de 45 saniye, bağlanma sıcaklığında 30 saniye ve 72 °C'de 45 saniye ve ardından son uzatma 72 °C' de 10 dakika kullanılarak gerçekleştirildi. İlgili direnç genlerinin amplifikasyonunu sağlayan primerlerin dizimleri Tablo 21'de verilmiştir.

**Tablo 21.** Antimikrobiyal direnç genlerinin tanımlanması için kullanılan primerler ve PZR reaksiyonları.

Kullanılan Primerler		PZR reaksiyonu		
Hedef gen	Primer dizini (5'-3')	Bağlanma ısısı	Bant büyüklüğü	Kaynak
<i>tet(O)</i>	F-GGCGTTTTGTTTATGTGCG	51	559 bp	Pratt ve Korolik (2005)
	R-ATGGACAACCCGACAGAAGC			
<i>aphA-3</i>	F-TGCGTAAAAGATACGGAAG	52	701 bp	Obeng 2012
	R-CAATCAGGCTTGATCCCC			
<i>bla<sub>OXA-61</sub></i>	F-AGAGTATAATAACAAGCG	46	372 bp	Obeng 2012
	R-TAGTGAGTTGTCAAGCC			
<i>ermB</i>	F-CAGGTAAAGGGCATTAAACGACG	60	738 bp	Zhou ve ark. 2016
	R-CATCTGTGGTATGGCGGGTAAG			
<i>gyrA</i>	F-GCTCTTGTTTAGCTTGATGC	56	620 bp	Wang ve ark. 1993
	R-TTGTCGCCATCCTACAGCTA			

### 3.2.9. Termofilik Kampilobakterlerin Çoklu İlaç Direnci (ÇİD)

Çalışmada termofilik Kampilobakterlerin Ampisilin, Tetrasiklin, Siprofloksasin, Gentamisin ve Azitromisin antimikrobiyal ilaçlardan 2 veya daha fazlasında görülen direnç 'Çoklu İlaç Direnci' olarak değerlendirildi.

### 3.2.10. Elektroforez Yöntemi

PZR amplifiye ürünleri, 100 bp plus DNA standartı ile birlikte etidyum bromür içeren% 1,5 jel kullanılarak agaroz jelde 100 volt ve 400 miliamperde 40 dakika yürütülerek analiz edildi. Jeller bir UV transillüminatörde görüntülendi. Direnç genine spesifik beklenen bant boyutları *tet(O)* geni için 559bp, *aphA-3* geni



için 701 bp, *bla<sub>OXA-61</sub>* geni için 372 bp, *ermB* geni için 738 bp ve *gyrA* 620 bp bant büyüklüğünün varlığı direnç geninine yorumlandı.

### 3.2.11. İstatiksel Analiz

Çalışmada, istatistiksel analiz için SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Bu kapsamda, termofilik *Kampilobakter* türlerin oransal dağılımının karşılaştırılmasında Mann-Whitney Test yönteminden faydalanıldı. Mevsimsel izolasyon oranı, yaşa bağlı kolonizasyon oranı, antibiyotiklere karşı dirençlilik/duyarlılık tespiti ve direnç gen bölgelerinin moleküler analizlerinin istatistiksel karşılaştırılması için Kruskal-Wallis Test yöntemi kullanıldı.



## 4.BULGULAR

### 4.1. Örnek Orjinleri ve Dağılımı

Bu çalışmada, Kars il merkez ve ilçelere ait köylerde aile tipi kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı farklı işletmelerden herbirinden 40 örnek olmak üzere Ocak 2020 – Ekim 2020 tarihleri arasında toplam 400 kaz kloakal sıvı örnekleri değerlendirildi.

### 4.2. İzolasyon Bulguları

Termofilik Kampilobakter izolasyonu için alınan kaz kloakal sıvı örneklerinden izolasyon oranını arttırmak için Preston Broth ön zenginleştirme besiyerinde 42°C’ de, mikroaerofilik şartlarda ve 48-72 saat süre inkübasyona alındı. Daha sonra kampilobakter türlerinin izolasyonu için selektif bir besiyeri olan mCCDA besiyeri bulunan petri kutularına ekimler yapılarak 42° C’ de, mikroaerofilik şartlarda ve 48-72 saat süre inkübasyona alındı. İnkübasyon sonrası selektif besiyerindeki gri renkli, su damlası şeklinde, düz kenarlı, yuvarlak/ düğmeli/ yaygın koloniler şüpheli Termofilik Kampilobakter türü olarak değerlendirildi (Resim 4).



**Resim 4.** mCCDA selektif besiyerinde üreyen kolonilerin görünümü.

Şüpheli kolonilerin makroskobik morfolojisi ve bu kolonilerden hazırlanan preparatların Gram yöntemi ile boyanması sonucu mikroskop sahasında kıvrık, S

veya martı kanadı benzeri Gram negatif etkenlerin görüldüğü örnekler termofilik Kampilobakter türleri yönünden pozitif olarak değerlendirildi (Resim 5).

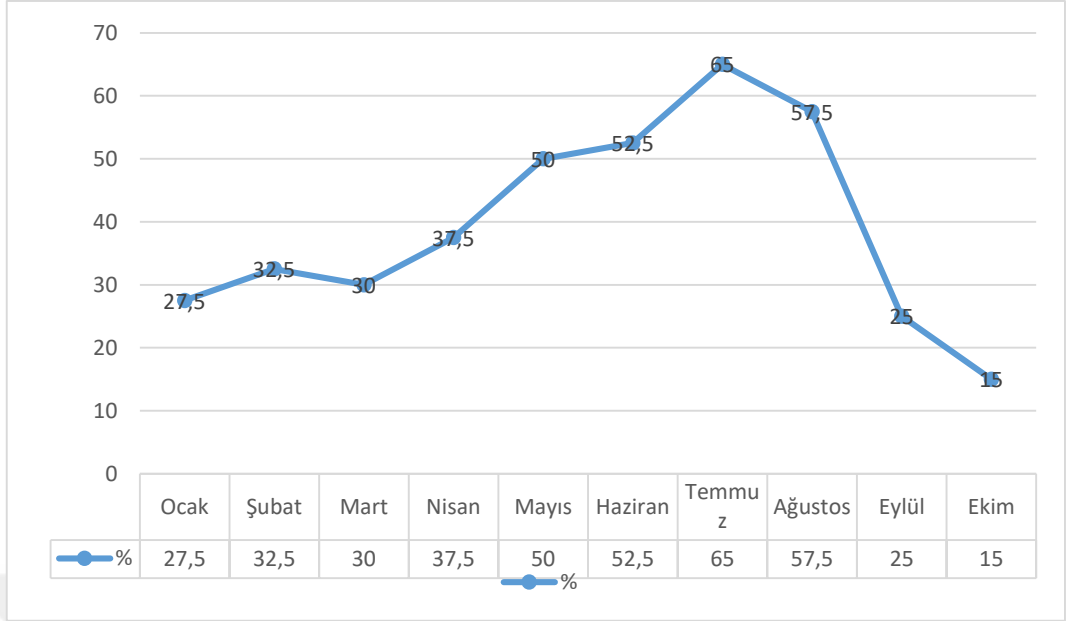


**Resim 5.** Termofilik Kampilobakter şüpheli mikroorganizmaların gram boyama sonrası X100'lük ışık mikroskobundaki görünümü.

Sonuç olarak, kültürel yöntemlerle incelenen sağlıklı görünüşlü 400 kaz kloakal svap örneğinden 157 (%39,3)'sinde *Campyobacter spp.* kültür pozitifliği elde edildi.

#### 4.2.1. İzole Edilen Termofilik Kampilobakter Etkenlerinin Aylara Göre Dağılımı

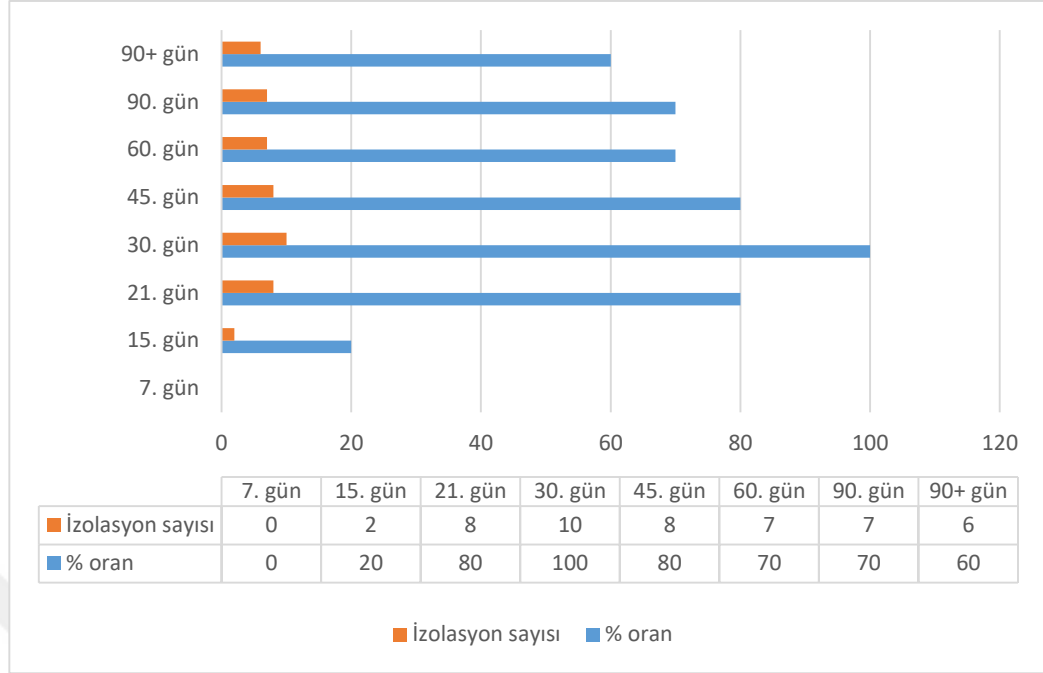
Çalışmada, Ocak- Ekim 2020 tarihleri arasında 10 aylık zaman diliminde alınan kloakal svap örneklerinden elde edilen 157 (%39,3) termofilik Kampilobakter izolatının izolasyon oranlarının aylara göre dağılımı Şekil 3'te gösterilmiştir. İzolasyon oranları incelendiğinde, termofilik Kampilobakter izolasyonunun ilkbahar aylarında artmaya başladığı ve yaz aylarında yüksek seviyelere ulaştığı görüldü. Sonbahar ve kış aylarında ise izolasyon oranlarının azalmaya başladığı görüldü. Termofilik Kampilobakter türlerin mevsimsel izolasyon oranları arasındaki istatistiksel analiz Kruskal-Wallis Test'i ile yapıldı ve tüm mevsimlerde izolasyon oranları anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 3.** İzole edilen termofilik *Campylobacter* türlerin aylara göre dağılım oranları (%)

#### 4.2.2. İzole Edilen Termofilik *Campylobacter* Etkenlerinin Yaşa Bağlı Kolonizasyonu

Termofilik *Campylobacter*lerin kaz kloakalarında yaşa bağlı olarak kolonizasyonunu analiz etmek amacıyla, aynı barınaktan aynı beslenme ve bakım koşullarına tabi tutulan 10 kaz civcivi seçildi. Mayıs ayının ilk haftasından başlamak üzere belirlenen 10 kaz civcivinden belirli aralıklarla kloakal sıvı örneği alındı. Örneklemede ilk yaş sınırı 7 günlük civciv ve sonraki yaş dönemleri ise 15, 21, 30, 45, 60, 90 ve 90 üstü günlük kazlardan örnekler alındı. Alınan kloakal sıvı örneklerinden ilk 7 günlük kaz civcivlerinde termofilik *Campylobacter* izolasyonu gerçekleştirilemez iken, civcivler 15 günlük iken %20'sinde, 21 günlük iken %80'ninde izolasyon yapılırken 30 günlük kazlardan etken izolasyonu %100 oranında etken izolasyonu yapıldı. Devam eden yaş aralıklarında ise sırasıyla %80, 70, 70 ve 60 oranında etken izolasyonu gerçekleştirildi (Şekil 4).



**Şekil 4.** Termofilik Kampilobakterlerin günlük yaşa bağlı kloakal kolonizasyonu.

Termofilik Kampilobakter türlerinin farklı yaş grupları arasında kolonizasyon oranlarının karşılaştırılmasının istatistiksel analizi Kruskal-Wallis Test yöntemi ile kullanıldı ve artan yaş grupları arasındaki kolonizasyon oranı anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).

#### **4.3. Termofilik Kampilobakter Türlerin Kültürel Yöntemlerle İdentifikasyon Sonuçları**

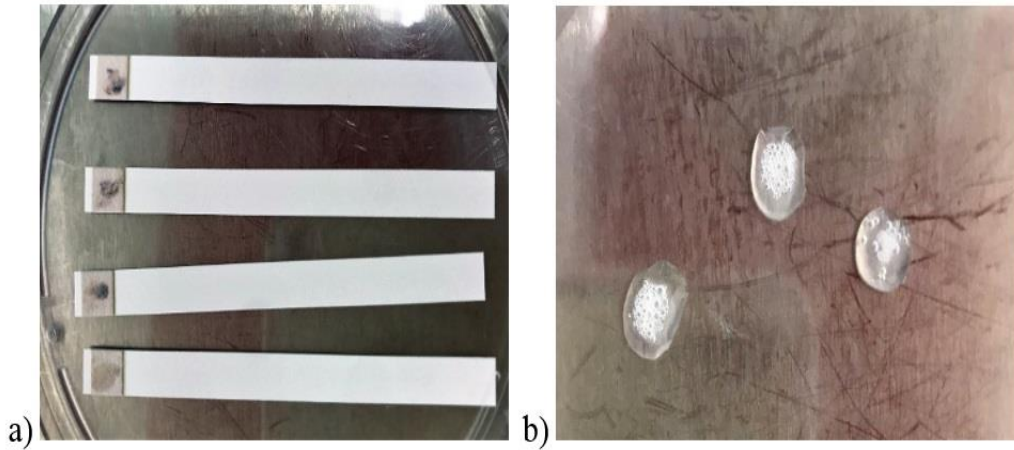
Çalışmada incelenen 400 kloakal sıvap örneğinden izole edilen 157 (%39,3) termofilik Kampilobakter izolatlarının tür identifikasyonu için taze kültürlerden Gram boyamada Gram negatif, virgül, martı kanadı formu tespit edilen kolonilerden öze ile alınarak hareket muayanesinin ardından oksidaz, katalaz, hippurat hidroliz, indoksil asetat testleri Nalidik asite duyarlılık ve Sefalotine dirençlilik fenotipik testleri uygulandı.

Fenotipik testlerden ilk olarak hareket muayane testi için şüpheli izolatların kolonilerinden steril bir öze alınarak lam-lamel arasında fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon haline getirildi ve mikroskopta incelendi. Tipik morfolojiyle beraber hareketliliğin tespiti, pozitiflik olarak değerlendirildi. Hareketsiz görülen izolatlarda

bakterinin uyku formunda olduğu olasılığı düşünülerek canlılığını tamamen kaybetmeden diğer fenotipik testlere geçildi.

Bir diğer biyokimyasal test olan oksidaz testi, Ticari Oksidaz test stripleri aracılığı ile gerçekleştirildi. Oksidaz strip kağıdının üzerine besiyerinden plastik öze yardımı ile alınan şüpheli koloni sürüldü. Oksidaz strip sürüntü bölgesinde 5-15 saniye içinde mor renk oluşumunun gözlenmesi oksidaz pozitif, renk dönüşümü görülmeyen izolatlar negatif kabul edildi. Termofilik *Kampilobakter* şüpheli 157 (%39,3) izolatın hepsinde pozitif sonuç elde edildi (Resim 6a) .

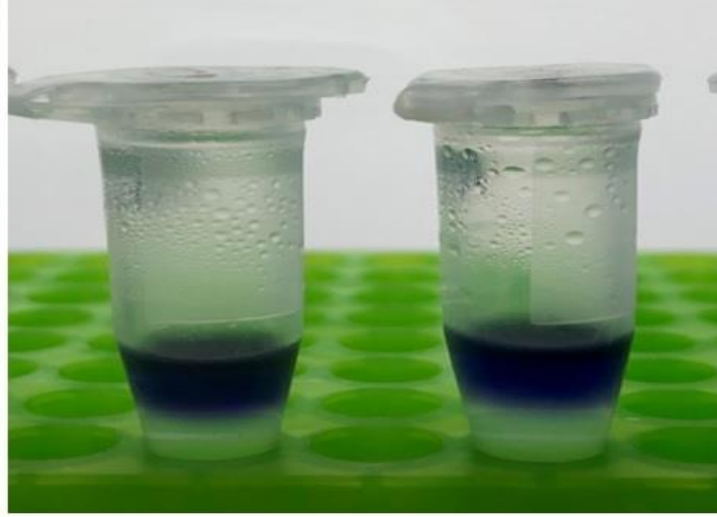
Katalaz testinde ise lam üzerinde 1-2 damla % 3 lük  $H_2O_2$  konulduktan sonra kanlı agarda üreyen şüpheli kolonilerden biri öze yardımı ile alınarak lam üzerindeki solüsyon ile karıştırıldı. Gözle görülen gaz kabarcığı oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi. 157(%39,3) şüpheli izolatta da pozitif sonuç bulundu (Resim 6b).



**Resim 6.** Termofilik *Kampilobakter* izolatlarının pozitif oksidaz (a) ve katalaz (b) reaksiyonlarına ait görünümü.

Termofilik *Kampilobakter*lerden hippurat hidoliz testine sadece *C. jejuni* pozitif sonuç vermektedir. *C. jejuni*'de bulunan hippurat hidrolaz (hippurilase) enzimi Sodyum hippuratu parçalayarak Benzoik asit ve Glisin'e yıkmasını takiben oksitleyici bir ajan olan ninhidrinin ilavesi ile glisin indirgenir. Ortamın koyu mavi veya mor renge dönüşümü pozitif olarak değerlendirilir. Bunun test için ilk önce *Kampilobakter* şüpheli taze kolonilerden birkaç tane alınarak Sodyum hippurat solüsyonunda yoğun bulanıklık oluşturuldu ve 42°C' de 2 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda solüsyona 0,2 ml Ninhidrin ayırıcı damlatıldı ve 42°C' de 10 dakika daha inkübe edildi. 157 (%39,3) şüpheli termofilik *Kampilobakter* şüpheli izolatın test sonucu, 151 (%96,2) izolatta solüsyonun renginin koyu mor renge dönüşmesi pozitif değerlendirilirken, 6 (% 3,8) izolatta açık mor veya renksiz kalması negatif olarak değerlendirildi ( Resim 7).



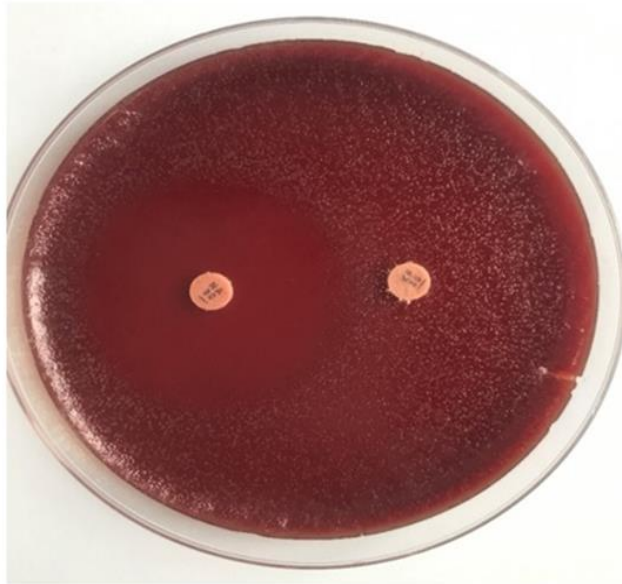
**Resim 7.** Termofilik *Kampilobakter* izolatlarının hippurat hidroliz testi sonucu oluşan koyu mor renk görünümü.

İzole edilen ve hippurat hidroliz test ile *C. jejuni* olarak tanımlanan izolatların haricinde kalan 6 (%3,8) izolatın tür tayini amacıyla indoksil asetat testi uygulandı. İn vitro olarak indoksil asetatın bakteriyel hidrolizi ile indoksilin açığa çıkar ve daha sonra indoksil oksijenle birleşerek kendiliğinden indigo mavisine dönüşür. Bu test için kullanılan ticari indoksil asetat test stripler üzerine sürülen şüpheli *Kampilobakter* kolonileri neticesinde indigo mavisinin görülmesi *C. lari* için negatif değerlendirildi (Resim 8).



**Resim 8.** Termofilik Kampilobakter indoksil asetat test sonucu striplerdeki renk değişimi.

*C. coli* veya *C. upsaliensis* termofilik Kampilobakter türlerin ayırımı için Nalidik asit ve Sefalotin antimikrobiyal ajanları ile disk difüzyon antimikrobiyal duyarlılık testi uygulandı. Test sonucunda 6 (%3,8) termofilik Kampilobakter izolatı Sefalotine direnç gösterirken, Nalidik asit antibiyotik diskler etrafında 10 mm üzeri zon çapının görölmesi duyarlı olarak değerlendirildi. Sonuç olarak, 6 (%3,8) izolat *C. coli* olarak tanımlandı (Resim 9).



**Resim 9.** *C. coli* olarak tanımlanan izolatların Nalidik asit etrafında zon oluşturması ve Sefalotin antibiyotiğine direnç oluşumu. (NA: Nalidik asit ve KF: Sefalotin antibiyotik diskleri)



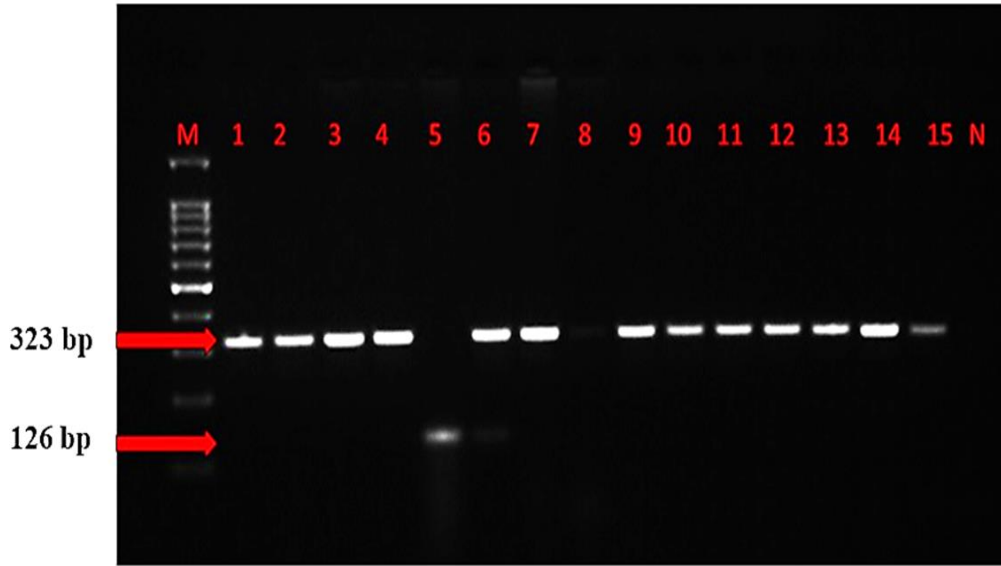
Sonuç olarak, 400 kaz kloakal sıvı örneklerinden elde edilen 157 (%39,3) termofilik *Kampilobakter* izolatının fenotipik testler sonucu 151 (%96,2)'i *C. jejuni* ve 6 (%3,8)'sı *C. coli* olarak tanımlandı (Tablo 22). *C. lari* ve *C. upsaliensis* termofilik *Kampilobakter* türlerinin tespiti yapılmadı. Kaz kloakal sıvı örneklerinden elde edilen termofilik *Kampilobakter* türlerinin oransal dağılımı Mann-Whitney Test ile yapılan istatistiksel analiz sonucu anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Buna göre, *C. jejuni*'nin görülme oranı *C. coli*'ye göre daha yüksek olduğu tespit edildi.

**Tablo 22.** Kültürel Yöntemler ile belirlenen termofilik *Kampilobakter*lerin tür dağılımı.

Örnek alınan ay	Örnek sayısı	İzolasyon sayısı(%)	Tür dağılımı	İstatistiksel analiz
Ocak	40	11 (27,5)	10 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Şubat	40	13 (32,5)	13 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Mart	40	12 (30)	12 <i>C. jejuni</i> -	$p < 0,05$
Nisan	40	15 (37,5)	14 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Mayıs	40	20 (50)	19 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Haziran	40	21 (52,5)	20 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Temmuz	40	26 (65)	25 <i>C. jejuni</i> 1 <i>C. coli</i>	$p < 0,05$
Ağustos	40	23 (57,5)	23 <i>C. jejuni</i> -	$p < 0,05$
Eylül	40	10 (25)	10 <i>C. jejuni</i> -	$p < 0,05$
Ekim	40	6 (15)	6 <i>C. jejuni</i> -	$p < 0,05$

#### 4.4. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının mPZR ile İdentifikasyon Bulguları

Kültürel analiz sonrası *C. jejuni* için *hipO*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis* için *glyA* gen bölgelerinin enzimatik olarak in vitro amplifikasyonunu gerçekleştirerek tür tayini sağlayan multipleks PZR (mPZR) yöntemi kullanıldı. Şekil 5' te gösterildiği gibi tür spesifik primerlerle gerçekleştirilen mPCR analizi sonucu; 151 (%96,2) izolatta 323 bp uzunluğunda amplifiye ürün varlığı tespit edilerek *C. jejuni* olarak tiplendirilirken 6 (%3,8) izolatin 126 bp uzunluğunda amplifiye ürün varlığı *C. coli* olarak tiplendirildi. *C. lari* için 251 bp ve *C. upsaliensis* için 204 bp bant boyutlarında amplifikasyon gözlenmedi. İdentifiye edilen türlerin oransal dağılımı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Tür spesifik mPZR ile tanımlanan termofilik Kampilobakter tür analiz sonucu ile kültürel yöntemlerle tanımlanan türler %100 oranında uyumlu olarak belirlendi.



**Şekil 5.** Termofilik Kampilobakter türlere ait elektroforetik görüntü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol. 1-15: *C. jejuni* ve *C. coli* izolatları. 5. örnek 126 bp uzunluğunda *C.coli* izolatını gösterirken; diğer örnekler 323 bp uzunluğunda *C. jejuni* izolatlarını göstermektedir.

#### 4.5. Termofilik Kampilobakter İzolatlarının MALDI-TOF MS ile İdentifikasyon Bulguları

Kaz kloakal sıvı örneklerinden elde ettiğimiz termofilik Kampilobakter izolatlarının bir diğer identifikasyonu MALDI-TOF kütle spektrometri metodu ile yapıldı. Bu kapsamda bakteri suşlarına ait 24 saatlik taze katı kültürler kullanıldı. -80° C’de saklanan 157 (%39,3) termofilik Kampilobakter izolatının tekrar canlandırma işlemi sonucunda 125 izolatta üreme görüldü. Termofilik Kampilobakterler hassas, kırılğan ve zor üreyen bakteriler olduğu için 32 *C. jejuni* suşunda üreme görülmedi ve MALDI-TOF MS analizi yapılamadı. Üreme görülen 125 izolatın MALDI-TOF MS analizi sonucu % 99,9 güven aralığında, 119 (%95,2)’u *C. jejuni* ve 6 (%4,8)’sı *C. coli* olarak tanımlandı. İdentifiye edilen türlerin oransal dağılımı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P< 0,05). MALDI-TOF MS ile tanımlanan 125 termofilik Kampilobakter izolatı, mPZR ve kültürel yöntem bulguları ile %100 oranında uyumlu olarak belirlendi (Tablo 23).

**Tablo 23.** Kültürel yöntemler, mPZR ve MALDI-TOF MS’e ait termofilik Kampilobakter identifikasyon bulguları.

Tür dağılımı	Kültürel yöntemler	m PZR	MALDI-TOF MS	İstatistiksel analiz
<i>C. jejuni</i>	151(%96,2)	151(%96,2)	119 (%95,2)	p<0,05
<i>C. coli</i>	6(%3,8)	6 (%3,8)	6 (%4,8)	p<0,05

#### 4.6. Termofilik Kampilobakter Türlerin Antibiyogram Test Bulguları

Çalışmada tanımlanan termofilik Kampilobakterlerin antibiyotik madde duyarlılık testleri, CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) 2017’ nin talimatları doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi (Resim 10). Antimikrobiyal test için Azitromisin (15 µg), Tetrasiklin (30 µg), Siprofloksasin (5 µg), Gentamisin (10 µg) ve Ampisilin (10 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı.



**Resim 10.** Mueller-Hinton agarda yapılan antimikrobiyal duyarlılık disk difüzyon testi sonucu oluşan inhibisyon zon görünümü. CN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, AZM: Azitromisin, AMP: Ampisilin ve TE: Tetrasiklin

Antimikrobiyal madde duyarlılık testleri sonucu 157 izolatta Ampisiline %33,8, Tetrasikline %41,4, Siprofloksasine %75,2, Gentamisine %12,1 ve Azitromisine %7,6 oranında direnç tespit edildi. Bakteri özelinde Tablo 24'de görüldüğü gibi *C. jejuni* suşlarının Ampisiline %33,1, Tetrasikline %41,7, Siprofloksasine %75,8, Gentamisine %12,6 ve Azitromisine %7,6 direnç belirlendi. *C. coli* suşlarında ise Ampisiline %50, Tetrasikline %33,3, Siprofloksasine %33,3 direnç görülürken Gentamisine ve Azitromisine karşı direnç gözlenmedi.

*C. jejuni* suşları arasında fenotipik olarak taranan Ampisilin, Tetrasiklin, Siprofloksasin, Gentamisin ve Azitromisin antibiyotiklerinin dirençlilik/duyarlılık bulguları Kruskal-Wallis Test'i ile yapıldı ve bütün antibiyotikler için bulgular anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 24.** Termofilik *Kampilobakter* suşlarının antimikrobiyal direnç aktiviteleri.

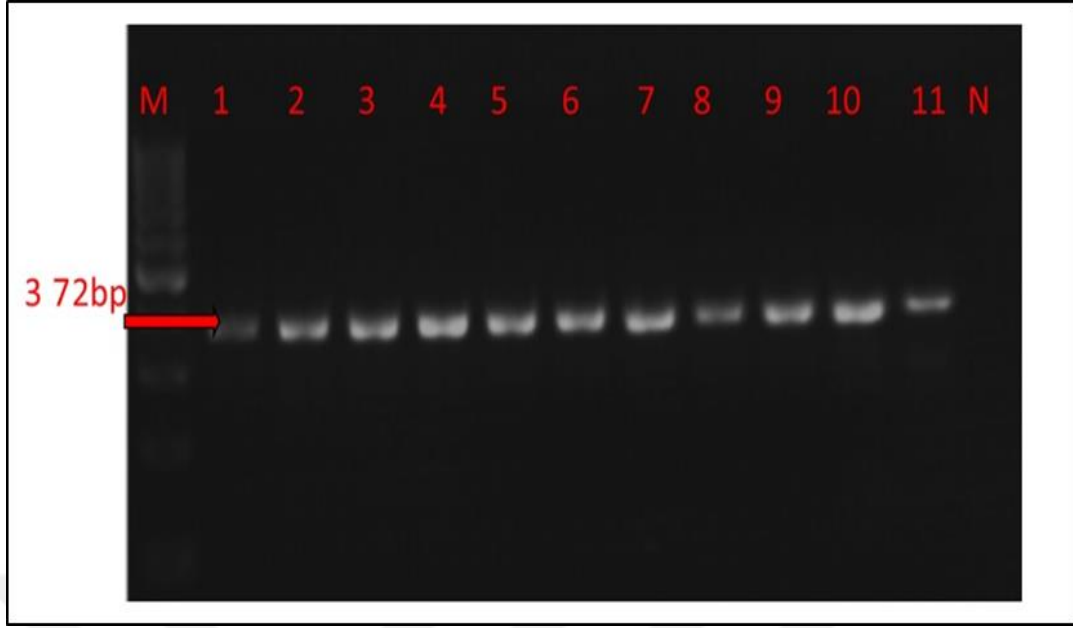
Antibiyotik	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		Toplam	
	n : 151	%	n : 6	%	n : 157	%
<b>Ampisilin</b>	50	33,1	3	50	53	33,8
<b>Tetrasiklin</b>	63	41,7	2	33,3	65	41,4
<b>Siprofloksasin</b>	116	76,8	2	33,3	118	75,2
<b>Gentamisin</b>	19	12,6	-	-	19	12,1
<b>Azitromisin</b>	12	7,9	-	-	12	7,6

#### 4.7. Termofilik *Kampilobakter*lerin Direnç Genlerinin PZR Bulguları

Çalışmada tanımlanan 151 (%96,2) *C. jejuni* ve 6 (%3,8) *C. coli* olmak üzere toplam 157 (%39,3) izolatın direnç genleri pozitifliği single-step PZR yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, direnç gen pozitifliğinden sorumlu en yaygın gen bölgeleri olan Ampisilin için *bla<sub>OXA61</sub>*, Tetrasiklin için *tet(O)*, Siprofloksasin için *gyrA*, Gentamisin için *aphA-3* ve Azitromisin için *ermB* gen bölgelerinin in vitro amplifikasyonu gerçekleştirildi.

##### 4.7.1. *bla<sub>OXA61</sub>* Direnç Geninin İncelenmesi

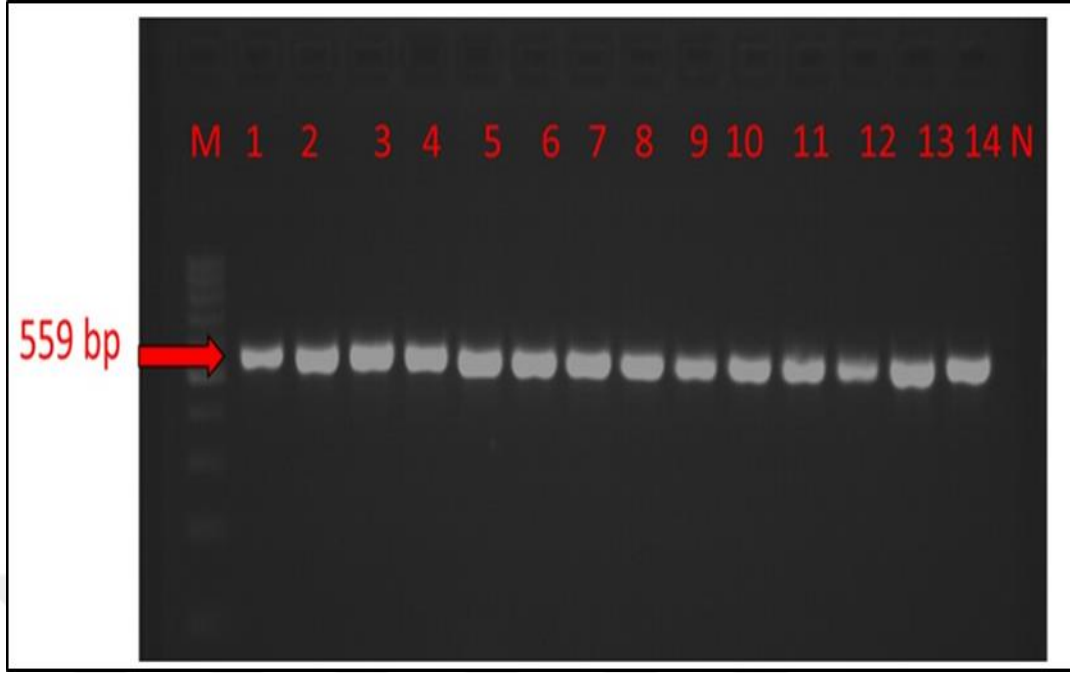
Antimikrobiyal test sonuçlarına göre 50 (%33,1) *C. jejuni* ve 3 (%50) *C. coli* olmak üzere toplam 53 (%33,8) termofilik *Kampilobakter* izolatında Ampisiline karşı direnç tespit edildi. Direnç görülen izolatlardan, *bla<sub>OXA61</sub>* gen bölgesinin PZR analizi sonucu elektroforetik görüntüde 372 bp bant boyutlu 17 (% 34) *C. jejuni* ve 2 (%66,6) *C. coli* olmak üzere toplam 19 (%35,2) izolatta *bla<sub>OXA61</sub>* direnç geni tespit edildi (Şekil 6).



**Şekil 6.** Ampisiline dirençli izolatlardan, 1-10 arası *bla<sub>OXA-61</sub>* gen bölgesinin 372 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol.

#### 4.7.2. *tet(O)* Direnç Geninin İncelenmesi

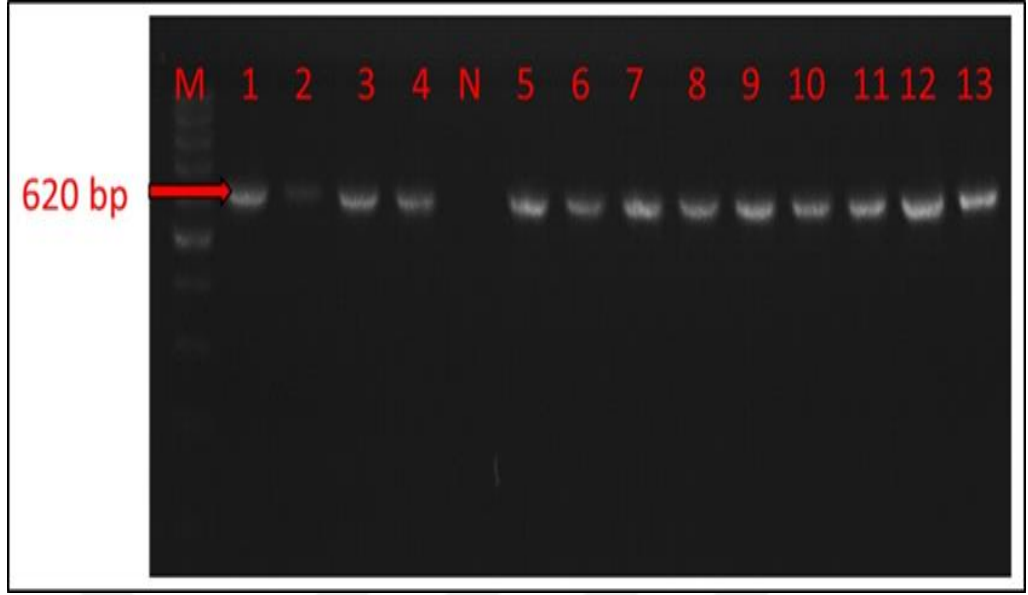
Antimikrobiyal test sonuçlarına göre 63 (%41,7) *C. jejuni* ve 2 (%33,3) *C. coli* olmak üzere toplam 65 (%41,4) termofilik Kampilobakter izolatında Tetrasikline direnç tespit edildi. Direnç tespit edilen izolatlardan *tet(O)* gen bölgesine özgü primerler kullanılarak gerçekleştirilen PZR analizinde 559 bp'lik gen bölgesi çoğaltıldı ve 58 (%98,3) *C. jejuni* ve 1 (% 1,7) *C. coli* olmak üzere toplam 59 (%90,8) izolatta *tet(O)* direnç geni belirlendi (Şekil 7).



**Şekil 7.** Tetrasikline dirençli izolatlardan 1-14 arası *Tet(O)* gen bölgesinin 559 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol.

#### 4.7.3. *gyrA* Direnç Geninin İncelenmesi

Antimikrobiyal test sonuçlarına göre 116 (%76,8) *C. jejuni* ve 2 (% 33,3) *C. coli* olmak üzere toplam 118 (% 75,2) termofilik *Kampilobakter* izolatında Siprofloksasine direnç tespit edildi. Direnç tespit edilen izolatlardan *gyrA* gen bölgesine özgü primerler kullanılarak gerçekleştirilen PZR analizinde 620 bp'lik gen bölgesi çoğaltıldı ve 60 (%50,8) (59 *C. jejuni* ve 1 *C. coli*) izolatta *gyrA* direnç geni tespit edildi (Şekil 8).

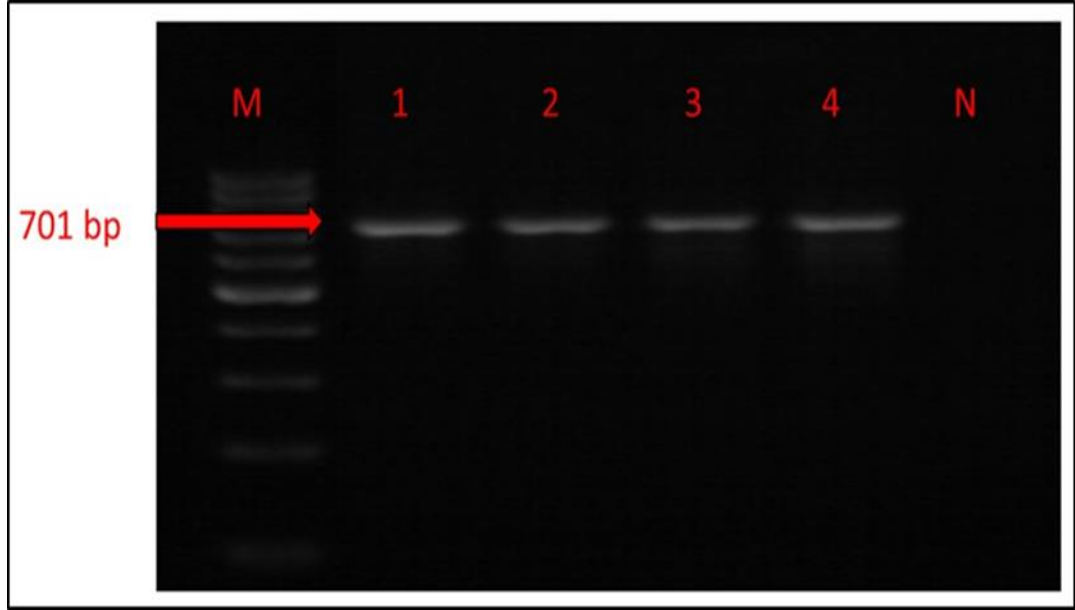


**Şekil 8.** Siprofloksasine dirençli izolatlardan 1-13 arası *gyrA* gen bölgesinin 620 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol.

#### 4.7.4. *aphA-3* Direnç Geninin İncelenmesi

Antimikrobiyal test sonuçlarına göre 19 (%12,1) *C. jejuni* suşunda Gentamisine direnç tespit edildi. Direnç tespit edilen termofilik Kampilobakter izolatlarından, *aphA-3* gen bölgesine spesifik primerlerle ile gerçekleştirilen PZR analizinde 701 bp'lik gen bölgesi çoğaltıldı. PZR analizi sonrası yürütülen elektroforetik görüntüde 10 (%52,7) *C. jejuni* suşunda 701 bp uzunluğunda *aphA-3* direnç geni tespit edildi (Şekil 9).





**Şekil 9.** Gentamisine dirençli izolatlardan 1-4 arası *aphA-3* gen bölgesinin 701 bp uzunluğunda elektroforetik görüntüsü. M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline) ve N: Negatif kontrol.

#### 4.7.5. *ermB* Direnç Geninin İncelenmesi

Azitromisine dirençli 12 (%7,6) *C. jejuni* suşunda, *ermB* gen bölgesine spesifik primerlerle ile yapılan PZR analizinde ilgili gen bölgesinin amplifikasyonuna rastlanılmadı. Ayrıca tüm direnç gen bölgelerinin PZR moleküler analiz sonuçları Tablo 25'te gösterildi.

**Tablo 25.** Direnç görülen izolatlardan PZR ile saptanan direnç gen profilleri.

Gen bölgesi	PZR pozitif direnç gen					PZR negatif direnç gen						
	<i>C. jejuni</i> (%)		<i>C. coli</i> (%)		Toplam (%)	<i>C. jejuni</i> (%)		<i>C. coli</i> (%)		Toplam (%)		
<i>bla<sub>OXA-61</sub></i>	17	34	2	66	19	35,2	33	66	1	33,3	34	64,1
<i>tet(O)</i>	58	98,3	1	50	59	90,8	5	7,3	1	50	6	9,2
<i>gyrA</i>	59	50,8	1	50	60	51,7	57	49,1	1	50	58	49,1
<i>aphA-3</i>	10	52,7	-	-	10	52,7	9	47,3	-	-	9	47,3
<i>ermB</i>	-	-	-	-	-	-	12	100	-	-	12	100

Fenotipik olarak ilgili antibiyotiklere karşı dirençli izolatlardan taranan direnç genlerinin oransal dağılımının istatistiksel analizi Kruskal-Wallis Test'i ile yapıldı. Analiz sonucu *tetO*, *gyrA*, *bla<sub>OXA61</sub>* ve *aphA-3* direnç genlerinin oransal dağılımı anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). *ermB* direnç gen bulgularının ise istatistiksel analiz için yeterli sayıda olmamasından kaynaklı analizi yapılamadı.

#### 4.8.Çoklu İlaç Direç Bulguları

Çalışmada, iki ve daha fazla antibiyotiğe direnç görülen suşlar ‘Çoklu İlaç Dirençi’ olarak değerlendirildi. ÇİD profilleri ve saptanan direnç gen profillerinin termofilik *Kampilobakter* tür bazında karşılaştırılması Tablo 25’da gösterildi.

**Tablo 26.** Çoklu İlaç Direnç profilleri ve saptanan direnç genlerinin oranları.

ÇİD Profili	Direnç Gen Profili	Suşların Dağılımı		
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Toplam
TET, AMP	<i>TetO</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	3	1	5
	<i>TetO</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	1	-	
CIP, AZM	<i>GyrA</i> -/ <i>ermB</i> -	2	-	3
	<i>GyrA</i> +/ <i>ermB</i> -	1	-	
GEN, AMP	<i>AphA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	1	-	1
CIP, AMP	<i>GyrA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	-	1	18
	<i>GyrA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	10	-	
	<i>GyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	3	-	
	<i>GyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	4	-	
CIP, GEN	<i>GyrA</i> -/ <i>aphA</i> -	1	-	2
	<i>GyrA</i> +/ <i>aphA</i> +	1	-	
TET, CIP	<i>TetO</i> -/ <i>gyrA</i> -	2	-	27
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +	22	-	
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> -	3	-	
CIP, AMP, AZM	<i>GyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +/ <i>ermB</i> -	1	-	1
CIP,GEN,AMP	<i>GyrA</i> +/ <i>aphA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	1	-	2
	<i>GyrA</i> -/ <i>aphA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	1	-	
TET, CIP, AMP	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	4	-	10
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	4	-	
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	1	-	
	<i>TetO</i> -/ <i>gyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	1	-	
TET, GEN, AMP	<i>TetO</i> +/ <i>aphA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -	1	-	1
TET, CIP, GEN	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>aphA</i> +	5	-	5
TET, CIP, GEN, AZM	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>aphA</i> -/ <i>ermB</i> -	1	-	1
TET, CIP, GEN, AMP	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>aphA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	3	-	4
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>aphA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +	1	-	
TET, CIP, AMP, AZM	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> -/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> -/ <i>ermB</i> -	1	-	2
	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +/ <i>ermB</i> -	1	-	
TET, CIP, AZM, AMP, GEN	<i>TetO</i> +/ <i>gyrA</i> +/ <i>bla<sub>oxa61</sub></i> +/ <i>aphA</i> -/ <i>ermB</i> -	1	-	1

Çoklu İlaç Direnci görülen izolatlardan, TET-AMP, CIP-AZM, GEN-AMP, CIP-AMP ve CIP-GEN antibiyotik profillerinin yer aldığı 56 izolat belirlendi. Bunlardan TET-AMP profiline 1 *C. coli* suşunda ve CIP-AMP profiline ise 2 *C. coli*

suşunda rastlanıldı. Kalan 53 suşun tamamı *C. jejuni* olarak belirlendi. İki antibiyotiğe dirençli izolatlardan *aphA/bla<sub>oxa61</sub>* 1, *gyrA/bla<sub>oxa6</sub>* 3, *gyrA/aphA* 1 ve *tetO/gyrA* 22 izolatta direnç gen profilleri belirlendi. CIP-AMP-AZM, CIP-GEN-AMP, TET-CIP-AMP, TET-GEN-AMP ve TET-CIP-GEN antibiyotiklerinden oluşan ÇİD profili ise 19 *C. jejuni* suşunda belirlendi. Bu suşlardan *gyrA/aphA/bla<sub>oxa61</sub>* direnç gen profili 1, *tetO/gyrA/bla<sub>oxa61</sub>* 4 ve *tetO/gyrA/aphA* profili 5 suшта saptandı. Ayrıca TET-CIP-GEN-AZM, TET-CIP-GEN-AMP ve TET-CIP-AMP-AZM direnç profili 7 *C. jejuni* suşunda belirlenirken; sadece bir suшта *tetO/gyrA/aphA/bla<sub>oxa61</sub>* direnç profili belirlendi. TET-CIP-AZM-AMP-GEN direnç profilinde ise bir *C. jejuni* suşunda saptandı ve bu suшта sadece *tetO/gyrA/bla<sub>oxa61</sub>* direnç genleri saptandı.

## 5. TARTIŞMA

Termofilik Kampilobakterler, tüm dünyada insanlarda yaygın gastrointestinal enfeksiyonlara sebep olan zoonotik bir patojenlerdir. İnsanlarda enfeksiyonların çoğuna (olguların yaklaşık %90'ı) *C. jejuni* sebep olurken bunu *C. coli* (olguların yaklaşık %10'u) takip eder. *C. lari* ve *C. upsaliensis*'e bağlı insan enfeksiyonları ise sporadik olarak meydana gelmektedir (Lawson 2011).

Kampilobakter türleri hayvanlarda reproduktif sistem enfeksiyonlarına neden olan ve genellikle herhangi bir semptomla neden olmaksızın bağırsak kanalında sıklıkla kolonize olurlar (Humphrey ve ark. 2007). Kolonizasyon, jejunum ve üst ileumdan başlar ve daha sonra ileum ve kolonun geri kalanına yayılır. Kampilobakterler, bağırsak mukozasını aşarak epitel hücrelerine yapışır ve burada kolonizasyonunun artmasıyla ishale neden olurlar (Lawson 2011). Termofilik Kampilobakterlerin optimum üreme ısılarının 42 °C'de olması, tirbuşon tarzı hareketleriyle bağırsak mukozasında rahat hareket edebilmeleri ve mikroaerofilik özellikleri nedeniyle kanatlı hayvanların bağırsaklarında adaptasyonunu kolaylaştırmaktadır (Park 2002).

Termofilik Kampilobakterler genellikle kanatlıların gastrointestinal ve genital sistemlerinde yer aldıklarından dolayı personel, alet ve ekipman hijyeninin yeterli olmadığı, sanitasyon ve dezenfeksiyon kurallarının yeterince uygulanmadığı işletmelerde kanatlı karkaslarının kontaminasyon riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Alfredson ve Korolik 2007). Termofilik Kampilobakterler, iç organların çıkarılması esnasında bağırsak içeriği ile kanatlı karkasına kolaylıkla bulaşabilmektedir. Bu etkenlerle kontamine ve az pişmiş etlerin tüketilmesiyle ya da enfekte hayvanların dışkılarıyla direkt temas sonucu insanlara enfeksiyon bulaşmaktadır (Whiley ve ark. 2013).

Kampilobakter enfeksiyonlarında, kanatlı hayvanların kloakal etken taşıyıcılığı ve dışkı ile nihai saçılımları hem insan enfeksiyonları hem de kanatlılar arasında bulaş açısından önemli bir epidemiyolojik özelliktir. İzolasyon oranları farklılık göstermekle beraber termofilik Kampilobakterlerin kanatlı hayvanlarda ve bu kapsamda kazlarda bağırsak kolonizasyonu ve dışkılarıyla etken atılımına yönelik hem uluslararası hem de ulusal birçok çalışma bildirilmiştir. Wiczorek ve Osek

(2015), Temmuz 2009' dan Aralık 2013' e kadar, kanatlı hayvanlardan toplam 2114 sürüntü örneğinden kampilobakter varlığı açısından incelemiş ve 1154 (%54,4) Kampilobakter izole etmiştir. Bu izolatların %50' sini *C. jejuni* ve *C. coli* olarak tanımlamıştır. Silva ve ark. (2016) 40 kanatlı hayvan çiftliğinden 200 kanatlı dışkı örneği toplamış ve 116' sından (% 58) termofilik Kampilobakter türü izole etmiştir. Örneklenen 40 kanatlı hayvanı çiftliğinin 33'ünde değişik oranlarda kampilobakter izole edilmiş ve 9 küme ise tüm numunelerden kampilobakter izolasyonu sağlanmıştır. Vogt ve ark. (2018) yapmış olduğu çalışmada Ekim 2013 ile Mayıs 2015 arasında yıl boyunca ve Güney Ontario'daki en az 10 farklı kentsel ve kırsal bölgeden 430 kaz dışkı sürüntü örneği toplamıştır. Toplanan örnekler arasında Kampilobakter genel prevalansı % 11,2 bulunurken, bunların çoğu *C. jejuni* olarak tanımlanmış, ardından *C. coli* ve küçük bir tiplenemeyen Kampilobakter yüzdesi izlemiştir. Zhang ve ark. (2018) 23 kaz fekal örneğinin 16 (% 69,5)'sında Kampilobakter türleri izole etmiştir. Ülkemizde ise Koluman 2010 yılında, 160 piliç bağırsak içeriği örneğinden 106 (% 66,25)' sında termofilik Kampilobakter türleri ile kontamine olduğu ortaya konulmuş. Bunlardan 82 (% 51,25)' sinin *C. jejuni* olduğu klasik kültür yöntemiyle tanımlanmış ve *C. jejuni* olarak belirlenen izolatların PZR tekniği ile doğrulamasını yapmıştır. Kars yöresinde Aydın ve Arıkoğlu (1997)'nün yapmış olduğu çalışmada 32 tavuk kloakal sıvap örneğinden % 87,5 (28/32) oranında *C. jejuni* izolasyonu elde etmişlerdir. Elmalı ve ark. (2004) yılında yine Kars ilinden topladığı 25 kaz karkas örneğinden % 60 *C. jejuni* izole etmiştir.

Bu çalışmada, Ocak- Ekim 2020 tarihleri arasında Kars ili merkez ve ilçelere bağlı bakım ve beslenme koşullarında farklılık görülmeyen farklı aile tipi işletmelerden alınan 400 kaz kloakal sıvap örneğinden termofilik Kampilobakter türlerin yaygınlığı araştırılmıştır. Bu kapsamda, alınan kloakal sıvap örneklerinin Preston Broth özenleştirme besiyerinde 42°C'de 48-72 saat mikroaerofilik şartlarda inkübasyonunu takiben mCCDA selektif besiyerinde gerçekleştirilen kültürel işlemler sonrası 157 (%39,3)'sinden termofilik Kampilobakter tür izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Tüm işletmelerden pozitif etken örneği bulunmuş fakat sıcak aylarda örnek alınan lokasyonlardaki izolasyon oranı soğuk aylarda örnek alınan lokasyonlardaki izolasyon oranından daha yüksek bulunmuştur. Yukardaki çalışmalarda ise kanatlı hayvanlardan ve kazlardan elde edilen termofilik

Kampilobakter izolasyon oranları kendi çalışmamızdaki oranlarla uyumlu bulunmuştur. Ancak Aydın ve Arıkoğlu (1997), Elmalı ve ark. (2004) ve Zhang ve ark. (2018) yapmış oldukları araştırmalardaki örnek sayılarından, Wieczorek ve Osek (2015) ve Koluman (2010) araştırmasındaki kullandıkları örnek türünden ve Vogt ve ark. (2018) yapmış oldukları araştırmanın farklı mevsimlerde yapılmasından kaynaklı izolasyon oranlarında farklılıklar meydana gelmektedir. Broman ve ark. (2002) farklı izolasyon oranlarını mevsimsel değişiklikler, kuş göçleri, örnek türü ve sayısından kaynaklandığını belirtmiştir.

Kampilobakterlerin 2-3 haftalıktan küçük kanatlı hayvanlarda kolonizasyonu nadiren tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak anneden gelen maternal antikorların varlığı ve çevresel faktörler olarak düşünülmektedir (Sahin ve ark. 2003b). Broman ve ark. (2002) kaz dışkı örnekleri ile yapmış olduğu bir çalışmada, Mayıs ayında etken izolasyon oranını Nisan ayından daha yüksek tespit etmiş ve bunu Mayıs ayında kaz yavrularından aldığı örneklerle ilişkilendirmiştir. Kaz yavrularının kuluçkadan çıktıktan sonra zamana bağlı olarak Kampilobakter kolonizasyonun arttığına işaret etmiştir. Kolonizasyonda sürenin de çevre kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır. Kazwala ve Collins (1989), tavuk civcivlerinden aldığı örneklerden termofilik Kampilobakter türlerin bağırsaklarda kolonizasyon zamanlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, ilk Kampilobakter izolasyonunun 8-14. günler arasında farklı oranlarda bulurken; 28. günden sonra oranın %96 düzeyine ulaştığını belirtmişlerdir. Deneysel çalışmalar, kolonizasyonun aşılardan bir gün sonra bile gerçekleşebileceğini göstermiştir (Holt ve ark. 1998 ve Shanker ve ark. 1988). Yeni doğan civcivlerde kolonizasyon oluşturmak için minimum infektif dozun 2 cfu kadar düşük olduğu belirtilmiştir (Delicato ve ark. 2002). Ancak yapılan başka çalışmalar da daha yüksek bulaşıcı dozlarda belirtilmiştir (Young ve ark. 1999 ve Stern ve ark. 1988). Yardımcı ve ark. (2002) tarafından, yeni doğan civcivlere *C. jejuni* ve *C. coli*'nin infektif dozu verilmiş ve 4 hafta süre ile bağırsaklarda etken kolonizasyon oranları incelenmiştir. Bağırsaklardan alınan örneklerden 7. ve 14. günde herhangi bir etkene rastlamazken, 21. günde %20,8-25 ve 28. günde %100 oranında etken izole edilmiştir. 90 günlük ve üstü olan kazlarda yapılan bir çalışmada ise alınan 80 dışkı örneğinden %40 oranında termofilik Kampilobakter türü izole edilmiştir (Moriarty ve ark. 2011).

Bu çalışmada, kazlarda termofilik Kampilobakterlerin bağırsak kolonizasyon zamanını belirlemek için aynı beslenme ve bakım koşullarında yetiştirilen 10 kaz yavrusundan sırasıyla 7., 15., 21. ve 30. günlerde periyodik kloakal sıvı örnekleri alındı. Kaz civcivlerinden 7. günde alınan örneklerde termofilik kampilobakter izolasyonu gerçekleştirilemezken diğer günlük kaz yavrularından sırasıyla % 20, 80 ve 100 oranında izolasyon yapıldı. Devam eden 45, 60, 90 ve üstü günlük kaz palazlarından değişik oranlarda sırasıyla %80, 70, 70 ve 60 oranında termofilik Kampilobakter varlığı tespit edildi. Ayrıca artan yaş aralıklarında pozitiflik oranlarının istatistiksel karşılaştırılması anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Çalışmada elde edilen ilk 30 günlük bulgularla, Kazwala ve Collins (1989) ve Yardımcı ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmalardaki bulgulara benzer bulunarak kolonizasyonun 30. günde %100'e yakın tespit edildiği görüldü. Yine elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda Moriarty ve ark. (2011) 90 günlük ve üstü kazlarda yapmış olduğu çalışmayla paralel olarak ergin kazlarda termofilik Kampilobakter izolasyonu yapıldı ve türlerinin varlığı devam ettiği belirlendi.

Kanatlı hayvanlar, insanlarda Kampilobakter infeksiyonlarının rezervuarı olarak bilindikleri için etken kolonizasyonuna paralel olarak insan infeksiyonlarında da mevsimsel zirveler görülmektedir. Kampilobakter mevsimselliğinin nedenlerinin araştırılması, insanlarda infeksiyon kaynaklarının aydınlatılmasına önemli katkılar sağlamaktadır. Çeşitli çalışmalar, insanlarda kampilobakteriyozisin insidansının kanatlı sürülerindeki kolonizasyona benzer şekilde mevsimsel bir seyir izlediği ve her ikisinin de çevresel sıcaklıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Baumgartner ve Felleisen 2011, Leflon ve Munier 2016). Mevsimsel değişimi açıklamaya yönelik potansiyel hipotezler üç kategoride ele alınmıştır. Bunlar; insanların davranışlarındaki mevsimsel değişimler ve insanları Kampilobakterlere maruz bırakan yaşam tarzı; rezervuarlarda ve kaynaklarda kampilobakter prevalansındaki mevsimsel değişimler veya bu ikisinin bir kombinasyonu olarak öngörülmüştür. Ilıman bölgelerde yaz aylarında daha sık görülmesi muhtemel olan Kampilobakter enfeksiyonları için bilinen risk faktörleri arasında hayvan teması, mangalda hazırlanan yemek yeme alışkanlıkları ve akarsulardan ve diğer doğal kaynaklardan gelen arıtılmamış suların tüketimi yer almaktadır (Eberhart-Philips ve ark. 1997). Kampilobakterlerde görülen bu zirvelerin mevsimlerle bağlantılı olduğu, özellikle

ılıman ve nemli bölgelerde, ilkbahar ve yaz aylarında hava sıcaklıklarının artmasıyla Kampilobakterler çevrede daha fazla hayatta kalması ve özellikle kanatlı hayvanlarda yayılımının artması için elverişli olduğu belirtilmiştir (Kalupahana ve ark. 2018).

Termofilik Kampilobakter türlerin bağırsak kolonizasyonunun mevsimle ilişkisine yönelik birçok çalışma bildirilmiştir. İsviçre'de yapılan bir araştırmada, yaz sezonunda %59,2 ve kış sezonunda %46,8 oranında etken kolonizasyonu saptanmıştır (Nylen ve ark. 2002). Morocco'da yapılan başka bir çalışmada, kanatlı hayvanlarda Kampilobakter türlerinin mevsimsel dağılımına bakıldığında, en yüksek (%40) pozitiflik yazın örneklenen kanatlı hayvanlarda saptanırken; ilkbaharda %19 ve sonbaharda %8 oranında tespit etmişlerdir ( Es-soucratti ve ark. 2020). Colles ve ark. (2008), kazlardan dışkı örneği almış ve mevsimsel olarak incelemiştir. Ağustos ayında aldığı kaz dışkı örneğinde %47,5 (19/40) oranında termofilik Kampilobakter türleri açısından pozitiflik bulurken, Eylül'de %43,4 (37/84) ve Şubat ise %32,9 oranında (27/82) etken izolasyonu gerçekleştirmiştir. Willis ve Murray (1997), Kampilobakter'lere ait kış aylarında %7-33 ve yaz aylarında %87-97 oranında izolasyon yapmıştır. Nitekim, Kuzey ve Güney Fransa'da Kampilobakter vakalarının %47'si Haziran ve Eylül ayları arasında bildirilmiş (Trompette ve ark. 2019). Nichols ve ark. (2012), 1989-2011 yılları arasında bildirilen bir milyon Kampilobakter olgusunu incelemiş ve her yıl ilkbahar sonlarında vakalarda artış gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Yukardaki literatür bulgularıyla mevsimsel olarak farklı izolasyon oranları ile ilgili Kuzey Tunus'ta yapılan bir çalışmada, Kampilobakter infeksiyon oranları ilkbaharda %52,2 ve kışın %3,5 iken, yaz ve sonbahar aylarında %11 oranında saptanmıştır (Manel ve ark 2018). Yine Güney Amerika'da mevsimsel eğilimlerle ilgili olarak Kampilobakter prevelansında Eylül ayında itibaren bir artış gözlenmiştir (Hofshagen ve Kruse 2005).

Kampilobakter türlerin mevsimsel prevelansları ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalar da mevcuttur. Koluman (2010), piliç kümesi ve kesimhanelerden aldığı örneklerden yaz aylarında (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos) %60,42 ve kış aylarında (Kasım, Aralık, Ocak, Şubat) %47,40 oranında *C. jejuni* izolasyonu gerçekleştirmiştir. Erbay (2006), yaz ve kış aylarında hindi örneklerinden termofilik Kampilobakter izolasyonu gerçekleştirmiş ve yaz aylarında etken izolasyonunu daha



yüksek saptamıştır. Kayman ve ark. (2013) ve Tezcan ve ark. (1984) Kampilobakter infeksiyonlarının yaz aylarında prevelanslarının pik yaptığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada termofilik Kampilobakter'lerin kolonizasyonunda mevsimlerin etkisini değerlendirmek amacıyla, 2020 Ocak ayından başlamak üzere 2020 Ekim ayına kadar birbirine yakın lokasyonlardaki kaz işletmelerinden toplamda 400 kaz kloakal sıvı örnekleri alındı. Alınan örneklerdeki termofilik Kampilobakter tür izolasyon oranları mevsimsel hareketler doğrultusunda değişkenlik gösterdi. Ocak ve Şubat aylarını kapsayan kış aylarında izolasyon oranı %27,5 ve %32,5 olarak belirlendi. Takip eden ilkbahar aylarında (Mart, Nisan ve Mayıs) izolasyon oranlarında artış görülerek sırasıyla % 30, 37,5 ve 50 olarak saptandı. Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında ise termofilik Kampilobakter tür izolasyonu % 52,5, 65 ve 57,5 oranları ile pik yaptığı görüldü. Eylül ayında %25 ve Ekim ayında %15 oranları ile en düşük izolasyon oranları elde edildi ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda mevsimsel izolasyon oranları anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Kars ve çevresinde kazlar özellikle havaların ısınmasıyla doğal ortamlarda açık hava şartlarında, meralarda ve doğal su kaynaklarından faydalanılarak yetiştirilmektedir. Bu durumda kazlar sürekli dış çevre ile temas halindedirler. Geleneksel yetiştirme biçimleri kazları hem yabani kanatlılarla hem de su kaynaklarıyla sıkça temasta olmasına yol açmaktadır. Bu bağlamda çalışmadaki sıcak aylardaki yüksek izolasyon ve soğuk aylardaki düşük izolasyon oranları Es-soucratti ve ark. (2020), Colles ve ark. (2008) ve Willis ve Murray (1997) yaptığı çalışmalarda bulgularla benzer bulundu. Sıcak aylarda görülen yüksek prevelans olgularının nedenleri arasında havaların ısınmasını takiben ilkbahar ve yaz aylarında hayvanların çevreyle temasının artması ve su kaynaklarına erişimlerinin sağlanması öngürülebilir. Ayrıca Nisan ve Mayıs aylarında kazların yumurtadan çıkması ve mevsimsel değişimden kaynaklı kuş hareketleri rol oynayabilir (Broman ve ark. 2002). Manel ve ark. (2018), Hofshagen ve Kruse (2005), Hansson ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmalarda mevsimsel yaygınlık arasındaki farkın nedeni olarak buldukları bölgelerdeki kış aylarının ılık ve yağışlı, yazın ise kurak olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kampilobakter infeksiyonlarının kesin tanısı mikrobiyolojik incelemeye dayanır ve kültürel yöntemler "altın standart" tanı yöntemidir. Kampilobakter

infeksiyonun araştırılmasında temel sorunlardan biri dışkıdan izolasyonunun güç ve biraz da zaman alıcı olmasıdır (Jerris ve ark. 2010). Fekal örneklerden yapılan izolasyonlarda özellikle *C. jejuni* ve *C. coli*'nin izolasyonunda selektif besiyerlerinin kullanılması önerilmektedir (Fitzgerald ve Nachamkin 2011). Termofilik Kampilobakter türlerin inkübasyonlar mikroaerofilik koşullar altında (% 5 O<sub>2</sub>, % 10 CO<sub>2</sub> ve % 85 H<sub>2</sub>) 42 °C' de gerçekleştirilmektedir. Konvansiyonel tanımlama, izolatların koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm (tipik hareketliliğe sahip kavisli gram-negatif basil) ve oksidaz - katalaz pozitivitesi öncelikli fenotipik özelliklerindedir (Lior 1984).

Kanatlılarda tespit edilen temel Kampilobakter türü *C. jejuni* olup bunu *C. coli* takip etmektedir (Hald ve ark. 2000, Heuer ve ark. 2001, Powell ve ark. 2012). Kamboçya'da 2011 ve 2013 yılları arasında 853 hayvan (tavuk, ördek, kaz, bildırcın, penguen, sığır, bufalo ve sığır) fekal örneği kültürel yöntemlerle incelenmiş, bu örneklerden 106 (%12,4) termofilik Kampilobakter izole edilmiştir. Fenotipik testler sonucunda 72 (%68) *C. jejuni* ve 31 (%29) *C. coli* olarak belirlerken 3 Kampilobakter izolatını tanımlayamamıştır (Osbyer ve ark. 2016). Williams ve Oyarzabal (2012), 2005 ve 2011 yılları arasında topladığı 755 broiler et örneklerinden %41 oranında Kampilobakter türü tespit etmiştir. Ülkemizde ise Koluman 2010 yılında 160 piliç bağırsak içeriği örneğinin 106 (% 66,25)' sının termofilik Kampilobakter türleri ile kontamine olduğu ortaya koymuş, bunlardan 82 (% 51,25)' sinin *C. jejuni* olduğunu klasik kültür yöntemiyle tanımlamıştır. Yine Köksoy (2011) piliç parça etlerinde (but, göğüs ve kanat) termofilik Kampilobakter tür varlığını kültür tekniğiyle gerçekleştirmiş ve fenotipik testler sonucu *C. jejuni* prevalansının %46,6 olarak bildirmiştir.

Bu çalışmada, kaz kloakal sıvı örneklerinden izole edilen 157 (%39,3) termofilik Kampilobakter izolatı On ve ark. (1996) tarafından önerilen biyokimyasal ve tolerans aktivite prosedürleri kullanılarak karakterize edildi. Bu kapsamda kültürel identifikasyon sonucu 151(%96,2)'i *C. jejuni* ve 6 (%3,8)'sı *C. coli* olarak tanımlandı. Termofilik Kampilobakterlerin tür dağılım oranları istatistiksel olarak *C. jejuni* için anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). *C. coli* izolasyon sayısının yetersiz sayıda olmasından kaynaklı analizi yapılamadı. Tanımlama oranları, literatür çalışmalardan Williams ve Oyarzabal (2012) ve Köksoy (2011) yapmış olduğu çalışmayla benzer

bulundu. Diğer çalışmalarla Osbjer ve ark. (2016) ve Koluman (2010) kıyaslandığında ise izolasyon oranlarının farklı olduğu anlaşılmaktadır. Bu farklılığın nedenleri örnek sayısı, örneklerin mevsimsel dağılımı ve hayvanların yetiştirilme biçimlerinden kaynaklanabilir.

Termofilik Kampilobakterlerin karbonhidratları kullanmamaları ve metabolik aktivitelerinin düşük olması bu bakteri türlerinin ve ilgili organizmaların fenotipik özelliklere göre yapılan tanımlanmalarda her zaman zorluk yaşanmaktadır. Ayrıca bu fenotipik özellikler çevresel baskıya tabidir. Örneğin kinolon direncinin ortaya çıkması, nalidik asit duyarlılık testinin değerini düşürmektedir. Bu nedenlerden dolayı tür düzeyinde doğru tanımlama için fenotipik testler her zaman yeterli olmamakta ve moleküler analize ihtiyaç duyulmaktadır (Nakari ve ark. 2008).

Kanatlı hayvanlardan en çok tespit edilen *C. jejuni*, ardından *C. coli* gelmektedir (Hald ve ark. 2000, Powell ve ark. 2012). Termofilik Kampilobakterlerde tür ayırımı için yapılan moleküler yöntemlerden biri olan PZR denemelerinde *C. coli* ve *C. jejuni* türünü ayırımında farklı bantlar meydana getirdiği tespit edilmiştir (Gonzales ve ark. 1997) Termofilik Kampilobakterlerin kanatlı hayvanlarda dışkı ve karkas örneklerindeki prevalanslarına yönelik yurt dışında ve ülkemizde yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Silva ve ark. (2016) Güney Brezilya'da yapmış olduğu çalışmada, 200 kanatlı dışkı örneğinin 80 (% 40)' ninde termofilik Kampilobakter türü izole ederken; bunların 63(%78,8) 'i *C. jejuni* ve 17(%21,2) 'si *C. coli* olarak tanımlamıştır. Yine Faltyn ve ark. (2018) Polonya'da; 70 tavuk, 47 hindi, 54 ördek ve 10 kaz eti olmak üzere toplam 181 örnekten sırasıyla, 49 (%70), 18 (%38), 43 (%80) ve 6(%60) termofilik Kampilobakter izole etmiştir. Tür ayırımında kullandığı PZR yönteminde ise 79 (%68) *C. jejuni* ve 37(%32) *C. coli* olarak tanımlamıştır. Wysok ve ark. (2020), 80 kümes karkas örneğinden elde ettiği 50 (%62,5) termofilik Kampilobakter tür izolasyonunun PZR analizi sonucunda 47 (% 94) izolat *C. jejuni* ve 3 (% 6) *C. coli* olarak tanımlamıştır. Ülkemizde de kanatlı hayvanlardan çeşitli örnek türleri alınmış ve termofilik Kampilobakter prevalansına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Yıldırım ve ark. (2005), broyler kümeslerinde alınan rektal svap örnekleri ve kesimhanelerden alınan karkas svap, barsak ve karkas yıkama tankından olmak üzere 428 örnek almış ve 393(%91,3)'ünde termofilik Kampilobakter izole etmiştir. İzolatların 362 (%92,2) *C. jejuni* ve 31 (%7,8) *C. coli*

olarak tanımlamıştır. Özkan (2012) tarafından yapılan çalışmada broilere ait barsak örneğinden % 94 oranında izole edilen termofilik Kampilobakterlerin %98,4'ü *C. jejuni*, %1,6'sı *C. coli*, olarak bulunurken, 100 adet yumurtacı tavuk dışkı örneğinden %84 oranında izole edilen termofilik Kampilobakter izolatlarının %91,9'u *C. jejuni*, %8,1 'i *C.coli* olarak bulmuş ve tür düzeyinde tanımlamayı PZR ile gerçekleştirmiştir.

Kanatlı hayvanlarda *C. jejuni*' nin daha yaygın olduğu teyit edilsede yapılan bazı çalışmalarda bildircin ve hindilerde *C. coli* türü daha yaygın olarak bulunmuştur (Kashoma ve ark. 2014, Fraqueza ve ark. 2016). Yukarıdaki çalışmalarda anlaşıldığı gibi kanatlı karkas ve dışkı örneklerinde en yaygın *C. jejuni* tespit edilirken ikinci sırada *C. coli* yer almaktadır. Bunun nedeni olarak kanatlı hayvanlar *C. jejuni*'nin başlıca kaynağı olup, bağırsak sistemlerinde kommensal olarak yaşamalarıdır. Bu çalışmada, 157 (%39,3) termofilik Kampilobakter izolatının tür prevelansını tanımlamak için mPZR yöntemi kullanıldı. Kültürel yöntemlerle uyumlu olarak tür spesifik primerlerle gerçekleştirilen mPZR tanımlama sonucunda 151 (%96,2) *C. jejuni* ve 6 (%3,8) *C.coli* olarak tanımlandı. Elde edilen bulgularda ve literatür çalışmalarda görülmektedir ki kanatlı hayvanlarda termofilik Kampilobakter prevelans oranları yüksek ve bütün çalışmalarda baskın tür *C. jejuni* ve ikinci tür ise *C. coli*' dir. Bu çalışmada ki bulgularla Silva ve ark. (2016) termofilik kampilobakter tür prevelansına benzer olmakla birlikte Faltyn ve ark. (2018) farklı hayvan orjinli etken izolasyonu yaptığı için farklı oranlarda izolasyon sonucu bulmuştur.

Kanatlı eti tüketimi yöresel olarak farklılık gösterebilir. Kars yöresinde özellikle kış aylarında protein kaynağı olarak kaz eti tüketilmektedir. Geleneksel kaz yetiştiriciliğinin yapıldığı ve geleneksel kesim tekniğinin uygulandığı bu bölgelerde hijyen kurallarına yeterince uyulmamakta ve kaz karkasları bağırsak içeriği ile kolayca kontamine olabilmektedir. Dünya'da birçok bölgede yapılan çalışmalarda, Kampilobakter türlerinin prevalansı kazlarda % 100 oranına kadar değişmektedir (Aydın ve ark. 2001, Waldenstrom ve ark. 2007, Colles ve ark. 2008, Griekspoor ve ark. 2013, Rutledge ve 2013). Moriarty ve ark. (2011), 80 kaz fekal örnekten %40, Fallacara ve ark. (2001), 357 kaz fekal örnekten %52 ve Colles ve ark. (2008) 331 fekal örnekten %50,4 temofilik Kampilobakter izole etmişlerdir. Wysok ve ark. (2020) 240 kaz karkas örneğinden 163 (%67,9) oranında termofilik Kampilobakter

izole etmiş, PZR identifikasyonun 142 (%87,7) *C. jejuni* ve 21 (%13,3) *C. coli* olarak tanımlamıştır. Jamali ve ark. (2015) 180 kaz bağırsak içeriğinden 47(%26,1)'inde Kampilobakter tespit edilmiş ve bunun 36 (%76,6)'si *C. jejuni* ve 11(%23,4)'i *C. coli* 'dir. Termofilik Kampilobakter patojenlerinin yaygınlığı literatürde oldukça değişkendir ve kısmen örnekleme coğrafi bölgesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Bonnedahl ve Järhult 2014). Bununla birlikte bu varyasyon, bunlarla sınırlı olmamak üzere, örnekleme teknikleri: örneklerin kaynağı (örn. Sağlıklı veya hasta ), örnekleme zamanı (örn. Mevsimsel değişim), örnek türü (örn. Tam dışkı, kloakal svaplar, dışkı svapları, karkas ), dışkı ya da numunenin tazeliği, numune toplamadan numune işlemeye kadar geçen süre ve kültür tekniklerinin hassasiyeti gibi nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kampilobakterlerin kazlardaki prevalansına yönelik ülkemizde yapılan çalışmalar sınırlıdır. Kars yöresinde yapılan araştırmalardan Aydın ve Arıkoğlu (1997), 58 kaz kloakal sıvap örneğinden 52 (% 89,6)'sinde *C. jejuni* izole etmişlerdir. Yine Aydın ve ark. (2001) ise 40 kaz kloakal sıvap örneğinin 12 (%30)'sinde *C. jejuni* ve 2 (%5) *C.coli* izolasyonu elde etmişlerdir. Elmalı ve ark. (1997), 42 kaz kloakal sıvap örneğinden *C. jejuni* izolasyonunda sırasıyla %61,9 olarak tespit etmiştir.

Bu çalışmada, kazlarda temofilik Kampilobakter prevalansını tespit etmek için kaz yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Kars iline bağlı ilçe ve köylerden alınan örneklerden 157 (%39,3) 'ünde termofilik Kampilobakter türü izole edilip, bunun 151 (%96,2)'i *C. jejuni* ve 6 (%3,8)'sı *C. coli* olarak identifiye edildi. Kaz örneklerinden elde edilen izolasyon oran bulguları, Türkiye'de yapılan araştırmalardan Aydın ve Arıkoğlu (1997)'nin izolasyon oranından düşük, Elmalı ve ark. (1997)'nin izolasyon oranıyla benzer ve Aydın ve ark. (2001)'nin izolasyon oranından yüksek bulunmuştur. İzolasyon oranlarındaki farklılık örnekleme yapıldığı mevsim ve alınan numune sayısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan çalışma sonuçlarındaki izolasyon oranlarının yüksek olmasının bir nedeni de kazların tamamen doğal su kaynaklarında ve yabancı kanatlılarla temasa açık olması şeklinde yorumlanabilir.

Kanatlı hayvanlarda kampilobakterler yüksek bir prevalansa sahiptirler. Kampilobakterlerin tespiti ve tayini için hızlı tanı önemli olduğu gibi kampilobakter infeksiyonlarının önlenmesi için elzemdir. Klasik tanı yöntemleri, bakterilerin kültürünün yapılmasına ve özelliklerinin belirlenmesine dayanan, zaman alıcı ve yoğun emek gerektiren işlemleri içerir. Bazı moleküler yöntemler daha güvenilirdir ancak bazen denemelerin standardize edilmesi önemli zaman kayıplarına neden olabilmektedir. Klasik PZR, ekstraksiyondan amplifikasyona birkaç saatlik manipülasyon gerektirir. Matriks ile ilişkili lazer desorpsiyon iyonizasyonu-uçuş zamanı (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi, standart yöntemlerle karşılaştırıldığında hız ve maliyet açısından oldukça dikkat çekmektedir (Beesede ve ark. 2010, Seng ve ark. 2009, Bizzini ve ark. 2010). MALDI-TOF kütle spektrometrisinin Kampilobakter türlerini ve ilgili organizmaları %98,3 hassasiyetle tanımlayabildiğini, geleneksel yöntemlerin ise %88,9 doğrulukta tanımlama sağladığını belirtmiştir (Martiny ve ark. 2010).

Dünya’da kampilobakterlerin MALDI-TOF MS ile tanımlanması ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Scerbova ve Laukova (2016), aldıkları 237 kanatlı hayvan dışkı örneklerinden 23 tane termofilik Kampilobakter izole etmiş ve MALDI-TOF MS tanımlaması sonucu 19 (%82,6)’ unu *C. jejuni* ve 4(%17,4) ‘ünü *C. coli* olarak tanımlamış ve PZR ile bu tanımlamayı %100 olarak doğrulamıştır. Yine Woz’niak-Biel ve ark. (2018), toplamda 45 Kampilobakter izolatını hindi (31; %68,9) ve tavuklardan (14;% 31,1) elde etmişlerdir. MALDI-TOF MS ve PZR yöntemleri ile incelenen tüm suşlardan 41 (% 91,1)’i *C. jejuni*, 4 (% 8,9)’ ü *C. coli* olarak tanımlamışlardır. Hindilerden izole edilen *C. jejuni* ve *C. coli* sayıları sırasıyla; 30 (% 96,8) ve 1 (% 3,2); piliçlerden elde edilen *C. jejuni* ve *C. coli* sayısı ise sırasıyla 11 (% 78,6 ) ve 3 (% 21,4)’tür. İki yöntemde de tanımlamalar birbirleriyle tamamen uyumlu bulunmuştur. Başka bir çalışmada, 140 kanatlı karkas örneğinden termofilik Kampilobakter cinse ait 48 bakteri izolatu elde etmişlerdir. MALDI - TOF kütle spektrometresi tür tanımlaması ile 31(%64,6) *C. jejuni* ve 17 (%35,4) *C. coli* suşu olarak sınıflandırılmıştır. Aynı çalışmada PZR ürünlerinin elektroforez profillerinin analizi sonucu, 48 izolatu tümünde Kampilobakter cinsine özgü 16S rRNA geninin varlığını doğrulanmış ve tür farklılaşmasında 31(%64,6) izolatu *C. jejuni* ve 17

(%35,4) izolatu *C. coli* olarak tanımlayarak iki yönteminde doğruluğunu kanıtlamışlardır (Nowaczek ve ark. 2019). Ahmed ve ark. (2019) 617 (tavuk, ördek, hindi ve altlık) kanatlı hayvan örneğinden fenotipik yöntemlerle elde ettiği 102 (%16,3) izolatu MALDI-TOF MS ve PZR tanımlayarak 40 (%39,2) *C. jejuni* ve 62 (%60,8) *C. coli* olarak tür identifikasyonu yapmıştır. Besse`de ve ark. (2011), bin insan suşu üzerinde Kampilobakter tanımlamasını MALDI-TOF MS ve PZR analizleri ile gerçekleştirmiştir. PZR ile tanımladığı %78 *C. jejuni*, %14 *C. coli* ve %8 diğer Kampilobakter türlerinin MALDI-TOF MS analizi sonucunda güvenilirlik değeri *C. jejuni* için % 99,4, *C. coli* ve diğer tüm Kampilobakter türleri için % 100 oranında bulunmuştur. Doğrulama ve karşılaştırma sonucunda MALDI-TOF MS nin kullanımını tavsiye etmişlerdir. Kolinska ve ark. (2008) yine 42 insan klinik örnekten 26 (%61,9) *C. jejuni* ve 16 (%38,1) *C. coli* MALDI-TOF MS ile tür ayrımı yapmış ve bu ayrımı PZR ile birebir tanımlama yaparak doğrulamıştır.

Bu çalışmada, termofilik Kampilobakter türleri kültürel yöntemler, PZR moleküler yöntemi ve MALDI-TOF kütle spektrometrisi yöntemi ile karşılaştırıldı. Bunun için ilk olarak MALDI-TOF MS’de tanımlama yapılabilmesi için 24 saatlik taze kültürler hazırlandı. Termofilik Kampilobakterler kırılğan ve güç üreyen bakteriler oldukları için 157(%39,3) izolatu 125 (%79,6)’inde üreme görüldü. Üreme görülen kültürler, MALDI-TOF MS mikroorganizma tanımlama cihazı ile tanımlama yapıldı. Tanımlama yapılan 125 (%79,6) izolatu 119 (%95,2)’u *C. jejuni* ve 6 (%4,8)’sı *C. coli* olarak kısa bir süre içerisinde tür bazında tanımlama yapıldı. Tanımlama yapılan 125 (%79,6) Kampilobakter suşu mPZR ve kültürel yöntemlerle karşılaştırıldığında %100 uyumlu bulundu. Böylelikle MALDI-TOF kütle spektrometresi ve PZR ile yapılan izolasyon sonuçlarının birbirleriyle uyumlu olması ve başka araştırmacıların (Scerbova ve Laukova (2016), Woz’niak-Biel ve ark. (2018), Nowaczek ve ark. (2018), Ahmed ve ark. (2019), Bessedede ve ark. (2011) ve Kolinska ve ark. (2008)) sonuçlarıyla benzer olması, bu teşhis tekniğinin termofilik Kampilobakter patojeni tanımlamak için kullanılabileceğini doğrulamaktadır. Ayrıca ülkemizde kazlarda termofilik Kampilobakter türlerin MALDI-TOF MS ile tanımlanması ilk kez bu çalışmada yer almaktadır.

Kampilobakter infeksiyonlarının prognozu açısından hızlı teşhisi kadar doğru tedavi seçeneklerinin uygulanmasında önemlidir. Termofilik Kampilobakterlerin

tedavisinde florokinolon, makrolid ve aminoglikozit grubu antibiyotikler gibi farklı antibiyotik preparatları kullanılmaktadır (Allos 2001). Fakat antibiyotik tedavisinden önce etkenlerin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi ve bu doğrultuda uygun tedavi rejiminin uygulanması tedavi başarı oranını artırmaktadır. Fakat kampilobakter türleri yıllar içinde birçok antimikrobiyal etkene karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmiştir (di Giannatale ve ark. 2014). Son yıllarda hayvansal üretimde ve beşeri hekimlikte antimikrobiyal direnç gösteren *C. jejuni* suşlarının bildirimi artmıştır (Tang ve ark. 2017, Szczepanska ve ark. 2017, Pollett ve ark. 2012). Ayrıca, antibiyotik direnci geliştiren *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının kontamine kanatlı karkasları, ekipmanları ve özellikle de mezbahane örneklerinden bildirimi de yapılmıştır (Torralbo ve ark. 2015). Antimikrobiyal maddelere karşı oluşan direncin bir nedeni de bu maddelerin tedavi amacından ziyade kanatlı hayvanlarda büyümeyi hızlandırıcı olarak yaygın kullanımlarıdır. Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda olduğu gibi insanlarda ve hayvanlarda antibiyotik kullanımı sınırsızdır ve gelişigüzel kullanımı antibiyotik direncini gün geçtikçe artırmaktadır (Luangtongtum ve ark. 2009, Iovine 2013). Bununla birlikte, artan antibiyotik direnci raporlarıyla ilişkili olarak tedavi başarısızlıklarının bildirimi de artmıştır (Rahmatallah ve ark. 2018). Sonuç olarak antibiyotiğe dirençli kampilobakterler giderek yaygınlaşarak antibiyotik tedavilerinin etkinliğini olumsuz etkilemekte ve halk sağlığı için ciddi bir endişeye yol açmaktadır (Tacconelli ve ark. 2018, CDC 2019).

Genel olarak kendi kendini sınırlayan bir hastalık olan Kampilobakter infeksiyonlarında terapötik müdahaleye ihtiyaç duyulmaz. Ancak ateş, kanlı ishal, 1 haftadan uzun süren semptomlar ve immünolojik açıdan riskli olanlarda antimikrobiyal tedavi düşünülmelidir. Kampilobakteriyozisin klinik tedavisinde güvenli terapötik ajanlar olarak kullanılan ve bu kapsamda tercih edilen antibiyotikler azitromisin ve eritromisin gibi makrolidlerdir (Chu 1999). Bu grup antibiyotikler hayvanlarda büyümeyi hızlandırmak amaçlı da kullanılmaktadır (McEwen 2002).

Makrolid grubunda yer alan Azitromisin, Kampilobakter infeksiyonlarını tedavi etmek için altın standart kemoterapötik madde olarak bilinir ve bakteriyel yayılmayı ve hastalığın seyrini etkili bir şekilde azalttığı düşünülmektedir (Kuschner



ve ark. 1995). Dünya’da termofilik Kampilobakterlerin makrolid dirençleriyle ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Szczepanska ve ark. (2017), kanatlılardan izole ettiği 40 *C. coli* ve 90 *C. jejuni* suşunun hiçbirinde Azitromisin direnci saptamamıştır. Thibodeau ve ark. (2011), kanatlı hayvanlardan izole ettiği *C. jejuni* izolatlarının %6 ‘sında Azitromisine direnç saptamıştır. Bailey (2019), broiler tavuklardan aldığı 312 fekal örnekten izole ettiği 40 (%12,8) termofilik Kampilobakter izolatında Azitromisin direncini % 2,6 olarak bildirmiştir. Zhao ve ark. (2015) Amerika’da insan ve tavuk etlerinden elde ettiği 151 termofilik Kampilobakter izolatlarından Azitromisin direncini %46,5 oranında bulmuştur. Ülkemizde ise Büyüknal (2017), İstanbul’da piliç etlerinde termofilik Kampilobakter prevalansını belirlemek için 176 örnek almış ve %36,36 oranında termofilik Kampilobakter izole etmiştir. 28 *C. coli*, 33 *C. jejuni* ve 3 *C. lari* olarak tanımlamıştır. İzolatların tamamının Azitromisine duyarlı olduğunu belirtmiştir. Aydın ve ark. (2001) 40 kaz kloakal sıvıap örneğinden %30 oranında *C. jejuni* izole etmiş ve %100’ ünü makrolidlere duyarlı bulmuştur. Hızlısoy (2014) 200 broiler tavuk etlerinden izole ettiği 158 *C. jejuni* suşundan Azitromisin direncini %4,4 olarak belirlemiştir. Çakmak (2009) hindi etlerinden izole ettiği 109 izolatında Azitromisin direncini Türkiye’ de yapılan diğer çalışmalardan yüksek olarak % 95,4 oranında direnç saptamıştır.

Bu çalışmada, 151 (%39,3) *C. jejuni* suşunun 12 (%7,9)’sinde Azitromisin direnci belirlenirken, 6 *C. coli* suşunda Azitromisin direnci tespit edilemedi. *C. jejuni* suşlarında görülen Azitromisin direnç oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Elde edilen bulgular literatür çalışmalarla (Szczepanska ve ark. (2017), Thibodeau ve ark. (2011), Bailey (2019), Büyüknal (2017), Aydın ve ark. (2001) ve Hızlısoy (2014)) uyumlu bulundu. Azitromisin’e görülen düşük direnç oranı antibiyotik tedavisinde tercih edilen ilk ilaçlardan olmasına yol açtığını belirtilmiştir (DuPont 2007, Tribble 2017). Farklı oranlarda direnç belirlenen Zhao ve ark. (2016) yapmış olduğu çalışmada ise bölgesel farklılıklardan ve yaygın kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çakmak (2009)’ın yapmış olduğu çalışmada ise söz konusu farklılığın son yıllarda Türkiye’de kanatlı yetiştiriciliğindeki profilaktik ve büyütme faktörü olarak makrolit grubu antibiyotik kullanımının, bilinçsiz olarak artmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada ABD ve Kanada’da aynı gruptan bir ilaç olan Tilosin, büyütme faktörü olarak

subterapötik dozlarda kanatlı yemlerine sıklıkla katıldığı ve ilgili atibiyotiğe direnç oranında da artış belirtilmiştir. Ancak Tilosine direnç oluşması, aynı kimyasal sınıfa ait olan eritromisin ve azitromisin de çapraz direncin oluşmasına neden olmuştur. (Ladely 2007). Sonuç olarak, kanatlı *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarında gözlemlenen makrolit dirençliliği kampilobakteriyozisin tedavisinde kullanılan önemli bir ilaç seçeneği olduğundan endişe yaratmaktadır.

Termofilik Kampilobakterlerden kaynaklanan akut ve sistemik enfeksiyonların tedavisinde geniş spektrumlu bakteriyosidal aktiviteye sahip olan aminoglikozidler kullanım alanı bulmuştur (Lawrence ve ark. 2010; Aarestrup ve Engberg 2001). Ancak birçok çalışmada Kampilobakter türlerin aminoglikozidlere in vitro duyarlılıklarının oldukça düşük olduğu saptanmıştır (Tenover ve Elvrum 1988, Gibreel ve ark. 2004). Yine son zamanlarda ortaya çıkan yeni aminoglikozid direnç genleri, bu antibiyotiklerin klinik kullanımını için bir tehdit oluşturmaktadır (Zhao ve ark. 2015, Qin ve ark. 2012).

Aminoglikozid gurubu içerisinde bulunan Gentamisin direncine yönelik birçok çalışma bildirilmiştir. Bailey ve ark. (2019), kanatlı fekal svap ve karkas örneklerinden elde ettiği 312 termofilik Kampilobakter izolatının Gentamisin direncini %0,6 olarak saptamıştır. Melo ve ark. (2019), kanatlı karkaslarından elde ettiği 99 *C. jejuni* suşunda gentamisin direncini %9,1 oranında tespit ederken, Bardon ve ark. (2017) insanlardan 59(%25,1) ve kanatlı hayvanlardan 48 (%23) *C. jejuni* izolasyonu yapmış ve tüm suşları Gentamisine duyarlı bulmuştur. Zbrun ve ark. (2015), 75 tavuk kloakal sıvap örneğinden 17 *C. jejuni* ve 17 *C. coli* olmak üzere toplamda % 45,3 (34/75) termofilik Kampilobakter izolasyonu sağlamıştır. Tüm izolatlarda Gentamisin direnci %14,5 olmak üzere, *C. jejuni*' de %23,5 *C. coli*' de %5,9 oranında direnç belirlemiştir. Alaboudia ve ark. (2020), tavuk karkaslarından izole ettiği 13 *C. jejuni* ve 19 *C. coli* türlerinden Gentamisin direncini *C. jejuni* için %15,4 ve *C. coli* için %36,8 olarak belirleyerek *C. coli* türlerinin Gentamisin'e daha çok direnç gösterdiğini belirtmiştir. Wysok ve ark. (2020)'nın Polonya'da kaz karkaslarından izole ettiği 143 *C. jejuni* ve 23 *C. coli* suşlarının tamamını Gentamisine duyarlı bulmuştur. Ülkemizden Diker (2008), 115 tavuk dışkı örneğinden 83 *C. jejuni* ve 33 *C. coli* izole etmiş ve Gentamisin direncini iki bakteri türünde de aynı olmak üzere %2 oranında saptamıştır. Büyükcinal (2017), piliç

etlerinden izole ettiği 33 *C. jejuni*, 28 *C. coli* ve 3 *C. lari* suşlarının tamamını Gentamisine duyarlı olarak saptamıştır. Aydın ve ark. (2001) yılında Kars ilinde topladığı 40 kaz kloakal sıvap örneklerinden 12(%30) *C. jejuni* izolasyonu sağlamış tüm izolatları Gentamisin'e duyarlı bulmuştur.

Bu çalışmada, kaz kloakal sıvap örneklerinden elde edilen 151 *C. jejuni* suşundan %12 (19)' sinde Gentamisine direnç saptanırken, 6 *C. coli* suşlarının tamamı duyarlı bulundu. Dirençli *C. jejuni* suşlarının oranı istatistiksel oranı anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). *C. coli* suşlarına direnç görülmediği için istatistiksel analiz yapılamadı. Yukarıdaki çalışmalarda belirtilen Gentamisin direnç oranlarına benzerlik göstermektedir. Saptanan düşük Gentamisine dirençli izolat seviyeleri, potansiyel olarak bu antimikrobiyal ajanın kanatlı ve dolayısıyla kaz yetiştiriciliğinde daha az kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca son zamanlarda gentamisine dirençli Kampilobakterlerin ortaya çıkmasında yeni aminoglikozid direnç genlerinin varlığının sebep olduğu düşünülmektedir.

Tetrasiklinler, 1940' larda keşfedilmesinden sonra hem insan hem de veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılan önemli bir antibiyotik sınıfıdır. Tetrasiklinler, Kampilobakterler de dâhil Gram pozitif ve Gram negatif birçok bakteriye karşı geniş spektrumlu aktiviteye sahip antimikrobiyallerdir (Chopra ve Roberts 2001). Tetrasiklinler, aminoasil-tRNA'nın ribozomal alıcı (A) bölgesine bağlanmasını önleyerek bakteriyel protein sentezini engellemektedir (Epe ve ark. 1987, Li ve ark. 2013). Tetrasiklinlerin uzun süreli kullanım geçmişi ve yaygın kullanım alanları nedeniyle, Kampilobakterler bu gruptaki ilaçlara karşı bir dizi direnç geliştirmiştir (Connell ve ark. 2003, Roberts 2005).

Termofilik Kampilobakter türlerin Tetrasiklin direncine karşı yurt içi ve yurt dışı çeşitli çalışmalar bildirilmiştir. Szczepanska ve ark. (2017), kanatlı etinden izole ettiği 144 (*C. jejuni* 90 ve *C. coli* 54) Kampilobakter izolatının Tetrasiklin direncini sırasıyla *C. jejuni* için %51,1 ve *C. coli* için %31,5 olarak saptamıştır. Bardon ve ark. (2017), 59 insan ve 48 kanatlı hayvanlardan elde ettiği *C. jejuni* izolatlarının Tetrasiklin direncini sırasıyla %52,5 ve %27,1 bulurken; Melo ve ark. (2019), tavuk karkaslarından tanımladığı 99 *C. jejuni* suşunun Tetrasiklin direncini %77,8 ve Bailey ve ark. (2019) broyler karkas ve fekal örneklerinden elde ettiği termofilik

Kampilobakter türlerinin Tetrasiklin direncini %72,8 olarak bildirmişlerdir. Frazqueza ve ark. (2013), kanatlı karkaslarından identifiye ettiği 82 *C. jejuni* ve 85 *C. coli* türlerinin Tetrasiklin direncini *C. jejuni* için %58 ve *C. coli* için %76 olarak yüksek oranda bir direnç bildirmiştir. Wysok ve ark. (2020), kaz karkas ve bağırsak örneklerinden izole ettiği 143 *C. jejuni* izolatının Tetrasiklin direncini %79,7 bulurken, 20 *C. coli* izolatında %80 oranında bulmuştur.

Ülkemizde termofilik Kampilobakter türlerinin Tetrasiklin direnci ile ilgili yapılan bir çalışmada, Çokal ve ark. (2009), 240 tavuk fekal örneklerinden elde ettiği 97 *C. jejuni* izolatlarında %76,3 ve 29 *C. coli* izolatlarında %55,2 Tetrasiklin direnci tespit etmiştir. Yıldırım ve ark. (2005), broiler kümeslerinden alınan rektal swab örnekleri ve kesimhanelerden alınan karkas swab, barsak (sekum) ve yıkama tankından alınan örneklerden 362 *C. jejuni* ve 31 *C. coli* izole etmiş ve Tetrasiklin direncini sırasıyla %42 ve %58 oranında bildirmiştir. Abay ve ark. (2014a) kanatlı orjinli Kampilobakter izolatlarında Tetrasiklin direncini %56 olarak bildirmiştir. Aydın ve ark. (2001) kaz kloakal sıvı örneklerinden izole ettiği *C. jejuni* suşlarında Tetrasiklin direncini %25 olarak bildirmiştir.

Bu çalışmada, 157 (151 *C. jejuni* ve 6 *C. coli*) termofilik Kampilobakter izolatlarının 65'inde Tetrasiklin direnci %41,4 oranında saptandı. 63 *C. jejuni* suşlarında %41,7 oran istatistiksel analiz sonucu anlamlı bulunur iken ( $p < 0,05$ ); 2 *C. coli* suşunda %33,3 Tetrasiklin direnci sayı azlığından dolayı istatistiksel analizi gerçekleştirilemedi. Yukarıdaki belirtilen çalışmalardaki Tetrasiklin direnç oranları (Szczeńska ve ark. (2017), Bardon ve ark. (2017), Frazqueza ve ark. (2013), Yıldırım ve ark. (2005), Abay ve ark. (2014a) ve Aydın ve ark. (2001)), Bu çalışmadaki her iki türde belirtilen direnç oranlarıyla uyumlu bulundu. Farklı oranlarda direnç tespit edilen çalışmalar (Melo ve ark. (2019), Bailey ve ark. (2019), Wysok ve ark. (2020), Çokal ve ark. (2009)) gerek ülkesel gerekse bölgesel farklılıkların yanısıra hayvanlarda kullanım biçimlerinden kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Andersen ve ark. 2006). Bazı ülkelerde (İngiltere ve Amerika) kanatlı enfeksiyonlarının tedavisinde yoğun bir şekilde kullanımdan kaynaklı olarak tetrasiklin direnci yüksek oranlarda tespit edilmektedir (Piddock ve ark. 2008). Antibiyotik içeren ajanların kullanım süreleri, çiftlikteki diğer hayvanlarının varlığı ve enfeksiyonlar gibi iç faktörlerin yanısıra antibiyotiklere kolay erişim gibi dış

faktörler de çiftçilerin antibiyotik kullanımını etkilemektedir ( Marroki ve Marroki 2019).

Florokinolonlar, Kampilobakter infeksiyonlarını tedavisinde tercih edilebilen antibiyotiklerdir (Nord ve Edlund 1991). Makrolid direncinde olduğu gibi florokinolon direnci de doğal olarak bir nokta mutasyonu sonucu ortaya çıkar ve sonuçta tedavi başarısızlığına ve semptomatik nüksetmelere yol açar (Segreti ve ark. 1992, Sanders ve ark. 2007). Yaygın kullanılan bir florokinolon olan Siprofloksasin direnci bazı çalışmalarda %30 ile %84 arasında rapor edilmiştir (Hoge ve ark. 1998, Pandey ve ark. 2010 ve Meng ve ark. 2011). İnsan kaynaklı Kampilobakter suşlarının Siprofloksasine direncinin 2001 ve 2010 yılları arasında %73,1' den %89,9' a yükseldiği bildirilmiştir (Pollett ve ark. 2012). Yine, gelişmiş ülkelerde gıda üretiminden sorumlu olan hayvanlarından elde edilen Kampilobakter türlerin florokinolonlara dirençlerinde artış bildirilmiştir (Taylor ve ark. 2008).

Termofilik Kampilobakter türlerin florokinolon direncine yönelik bir araştırmada, Bardon ve ark. (2017), 82 insan izolatu (59 *C. jejuni* ve 23 *C. coli*) ve 91 kanatlı karkas izolatının (48 *C. jejuni* ve 43 *C. coli*) Siprofloksasin direncini sırasıyla %72,9 ve %68,8 olarak belirlemiştir. El-Adawy ve ark. (2015), hindi etinden elde ettiği izolatların (41 *C. jejuni* ve 55 *C. coli*) Siprofloksasin direncini *C. jejuni* ve *C. coli* için sırasıyla %50 ve %44 olarak belirlemiştir. Zbrun ve ark. (2015), kanatlı etinde identifiye ettiği 105 *C. jejuni* ve 43 *C. coli* suşlarının Siprofloksasin direncini sırasıyla %86,7 (91) ve %93 (40) olarak belirlemiştir. Szczepanska ve ark. (2017) kanatlı etlerinden elde ettiği 144 Kampilobakter izolatının Siprofloksasin direncini *C. jejuni* için %74,7 ve *C. coli* için %59,2 olarak bildirmiştir. Tang ve ark. (2020), tavuk ve domuz dışkı örneklerinden elde ettiği 93 Kampilobakter türünün Siprofloksasin direncini %64,5 olarak belirlemiştir. Wysok ve ark. (2020) kaz karkas ve bağırsak örneklerinden elde ettikleri 163 termofilik Kampilobakter izolatında Siprofloksasin direncini *C. jejuni* (143) için %92,3 ve *C. coli* (20) için %95 oranında saptamıştır. Jamali ve ark. (2015) 47 kaz bağırsak örneklerinden izole ettiği 36 *C. jejuni*' de Siprofloksasin direncini %75 ve 11 *C. coli*' de %63,6 olarak bildirmiştir.

Ülkemizde termofilik Kampilobakterlerin Siprofloksasin direnci ile ilgili yapılan bir araştırmada rutin insan dışkı kültürlerinden beş yılda izole edilen

kampilobakter türlerinin identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada, çalışılan suşların siprofloksasin direncinin %59 gibi yüksek bir düzeye ulaştığı görülmüştür (Öngen ve ark. 2007). Abay ve ark. (2014a), tarafından yapılan bir diğer çalışmada insan *C. jejuni* izolatlarında %81; tavuk *C. jejuni* izolatlarında ise %93'lük siprofloksasin direnci rapor edilmiştir. Çokal ve ark. (2009), kanatlı kloakal örneklerden izole ettiği 97 *C. jejuni* izolatlarında %74,2 ve 29 *C. coli* %65,5 oranında Siprofloksasin direnci saptamışlardır. Yıldırım ve ark. (2005) tarafından kanatlı karkas ve sıvap örneklerinden elde edilen *C. jejuni* izolatlarında %31,3 ve *C. coli* izolatlarında %31,2 oranında kinolon direnci bildirmiştir.

Bu çalışmada, 157 termofilik Kampilobakter izolatında Siprofloksasine %75,2 (118) oranında bir direnç tespit edildi. Tür bazında ise 116 *C. jejuni* suşu %76,8 ve 2 *C. coli* suşu %33,3 oranında direnç tespit edildi. *C. jejuni*'de görülen direnç oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. *C. coli* sayı yetersizliğinden analize dahil edilemedi. Siprofloksasin antibiyotik ajana karşı tespit edilen her iki türdeki direnç oluşumları ile ilgili incelenen diğer araştırmaların (Bardon ve ark. (2017), El-Adawy ve ark. (2015), Zbrun ve ark. (2015), Szczepanska ve ark. (2017), Tang ve ark. (2020) Wysok ve ark. (2020) Jamali ve ark. (2015) (Öngen ve ark. 2007). Abay ve ark. (2014a), Çokal ve ark. (2009) ve Yıldırım ve ark. (2005)) sonuçları ile bir paralellik göstermektedir. Özellikle florokinolon olmak üzere antibiyotiklere karşı Kampilobakterlerde gelişen direnç, hayvanlarda büyümenin hızlandırılması ve tedavi amacıyla bilinçsiz antibiyotik uygulamalarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Kurinčić ve ark. 2007). Geniş antibakteriyel etki alanına Siprofloksasine karşı orta seviyeden yüksek seviyeye kadar değişen oranlarda direnç durumu tespiti oldukça önemli bir halk sağlığı problemi olarak değerlendirilmiştir (Engberg ve ark. 2004, Hakanen ve ark. 2003, Moore ve ark. 2001). Genellikle kinolon direncini belirleyen bölgedeki *gyrA*'nın *Thr-86*, *Asp-90* ve *Ala-70* pozisyonundaki özel mutasyonların direncin yayılmasında etkili olduğu ve *gyrA*'da tek bir mutasyon olmasıyla florokinolonlara direncin yüksek düzeyde olması gerçeği, bunlara direncin çok kolay oluşabileceğini göstermiştir (Moore ve ark. 2006).

İmipenem haricinde, *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının çoğu, başlıca penisilinler ve sefalosporinler olmak üzere beta-laktam ajanlarına dirençlidir. *C. jejuni* ve *C. coli*'nin kromozomal moleküler sınıf D-laktamazının yalnızca Amoksisilin, Ampisilin ve Tikarsilin'e dirençte rol oynadığı görülmektedir (Alfredson ve Korolik 2007). Kampilobakter türleri, b-laktamazların (kromozomal OXA tipi) ekspresyonu yoluyla beta-laktam antimikrobiklerine direnç geliştirir (Avrain ve ark. 2004). Bununla birlikte, bu bireysel direnç mekanizmalarından ayrı olarak, enerjiye bağımlı çoklu ilaç dışı akış sistemi (CmeABC) Kampilobakter türleri arasında yaygın olduğu bilinmektedir (Olah ve ark. 2006). Ek olarak, kampilobakter infeksiyonlarında beta-laktam kullanılarak uygulanan tedavilerde, *C. jejuni* duvarının bu antibiyotikler için geçilmez olduğu düşünüldüğünden önerilmemektedir (Jonker ve Picard 2012).

Yurt dışında yapılan bir araştırmada, Bardon ve ark. (2017) insan orjinli 59 *C. jejuni*'de %67,8 ve 23 *C. coli*'de %47,8 oranında Ampisilin direnci saptamıştır. Aynı çalışmada kanatlı etinden elde edilen 48 *C. jejuni* izolatında %54,2 ve 30 *C. coli* izolatında %56,7 oranında Ampisilin direnci saptanmıştır. Es-soucratti ve ark. (2020), Fas'da kanatlı dışkı örneklerinden elde edilen 102 Kampilobakter izolatında %81,9 oranında Ampisilin direnci belirlerken ve 41 *C. jejuni* suşunda ise Ampisilin direncini %85 olarak bildirmiştir. Avustralya'da yapılan araştırmada kanatlı ve insan orjinli Kampilobakter türlerin Ampisilin direnci %15,4 oranında tespit edilmiştir (Mattheus ve ark. 2012). Polonya'da ise Wysok ve ark. (2020) tarafından kaz karkas ve sekum izolasyonlarından *C. jejuni* (143)' de %33,6 ve *C. coli* (20)' de %35 oranında direnç bildirmiştir. İran'da kaz kloakal örneklerden yapılan araştırmada 36 *C. jejuni* ve 11 *C. coli* izole etmiştir. *C. jejuni* için Ampisilin direncini sırasıyla %5,6 olarak belirlerken *C. coli*'nin tamamını duyarlı olarak olarak bildirmiştir (Jamali ve ark. 2015).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Büyükcünal ve ark. (2017), kanatlı etlerinden izolasyon sağladığı 28 *C. coli* türünde ampisilin direncini %10,71 bulurken, 33 *C. jejuni* ve 3 *C. lari* türünde ise ampisiline direnç bildirmemiştir. Diker (2008), farklı hayvan türlerinden (tavuk, sığır, koyun ve köpek) aldığı örneklerden izole ettiği 190 *C. jejuni*'de Ampisilin direncini %27,4 oranında belirlerken, 58 *C. coli* türünde ise direnç oranını %32,7 olarak bildirmiştir. Aydın ve ark. (2001) Kars

ilinden aldığı 40 kaz kloakal sıvap örneklerinden 12 *C. jejuni* izole ermiş ve bu izolatların Ampisiline %33 oranında direnç bildirmiştir.

Bu çalışmada, Kars ilinden alınan kaz kloakal sıvap örneklerinden izole edilen 50 *C. jejuni* ve 3 *C. coli* suşlarında sırasıyla %33,1 ve %50 oranında Ampisilin'e direnç görüldü. *C. jejuni* için direnç oranı istatistiksel olarak anlamlı bulurken ( $p<0,05$ ), *C. coli* suşlarının sayı yetersizliğinden dolayı analizi yapılamadı. Elde edilen Ampisilin direnç oranları gerek yurt dışı gerekse yurt içi çalışmalarda belirlenen direnç oluşumlarıyla paralellik göstermektedir (Bardon ve ark. (2017), Wysok ve ark. (2020), Diker (2008), Aydın ve ark. (2001)). Es-soucratti ve ark. (2020)' nın Fas' ta yapmış olduğu çalışmada yüksek Ampisilin direncini bu bölgede yaşayan insan ve hayvanlarda antibiyotik kullanımının sınırsız olmasından ve Fas'lı broiler üreticilerin ekonomik kaygılardan dolayı düzenli olarak kullanımdan kaynaklandığını belirtmiştir. Jamali ve ark. (2015) çalışmasında saptanan düşük direnç izolasyon seviyesini bu antimikrobiyal ajanın potansiyonel olarak daha az kullanımından kaynaklandığını düşünmektedir.

Klinik önemi olan bakterilerin oluşturdukları hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin gelişi güzel ve çok sık kullanımı antibiyotiklere karşı direnç oluşturarak çoklu ilaç direncine sebep olmakta ve bu durum bugün tıbbın karşı karşıya olduğu en önemli sorunlardan biri haline gelmektedir. Antibiyotik kullanımının infeksiyonun tedavisinde etkin olmasında ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasında bakterilerin direnç mekanizmalarının iyi bilinmesine bağlıdır. Bunlardan antimikrobiyal ilacın hedefinde ortaya çıkan değişiklikler veya enzimatik yolla antimikrobiyalin inaktivasyonu direnç mekanizmalarından bazılarıdır. Ayrıca, bakteriyel transport proteinlerinden bazılarının toksik antimikrobiyal bileşiklere aktif olarak hücre dışına pompaladığını ve bunun çoklu ilaç direncinde oldukça etkin rol oynayan bir başka mekanizma olduğunu belirlenmiştir. Bu pompalama mekanizmasının ekspresyonlarının mutasyona uğraması sonucu florokinolonlar, beta-laktamlar, tetrasiklinler, aminoglikozidler ve kloramfenikol gibi farklı sınıftan birçok antimikrobiyal ilaca karşı yüksek düzeyde direnç göstererek çoklu ilaç direnci meydana gelebilmektedir (Hasdemir 2007).



Termofilik Kampilobakter'lerin Çoklu İlaç Direnç (ÇİD) durumuna ilişkin Tang ve ark., (2020) yapmış olduğu çalışmada, tavuk ve domuzlardan izole ettikleri toplam 45 *C. jejuni* ve 48 *C. coli* suşunda, aralarında Azitromisin, Gentamisin, Tetrasiklin ve Siprofloksasinin de bulunduğu dokuz antibiyotiğe karşı *C. jejuni* %64,4 ve *C. coli* %64,5 oranında ÇİD oranı belirlemiştir. Bardon ve ark. (2017), kanatlı karkaslarından izole ettiği 50 *C. jejuni* ve 43 *C. coli* türlerini MALDI-TOF MS ile tanımlamış ve bu suşların Eritromisin, Gentamisin, Tetrasiklin, Siprofloksasin ve Ampisiline karşı çoklu ilaç direnci *C. jejuni* için %64 ve *C. coli* için %90,7 olarak belirlemiştir. Wysok ve ark. (2020), kaz çekum ve karkas örneklerinden elde ettikleri 143 *C. jejuni* ve 23 *C. coli* türlerinin Ampisilin, Siprofloksasin, Eritromisin, Gentamisin, Nalidik asit, Tetrasiklin ve Kloramfenicol antibiyotiklerine karşı ÇİD oranını çekum için %28 ve karkas için %30,2 belirlemiştir. Ülkemizde ise Abay ve ark. (2014a), tavuk karkas örneklerinden izole ettiği 100 *C. jejuni* suşunun Amoksisilin–Klavulanik asit, Eritromisin, Gentamisin, Ampisilin, Streptomisin, Tetrasiklin, Enrofloksasin ve Siprofloksasin antibiyotiklerinde ÇİD oranını %94 olarak bildirmiştir. Hızlısoy (2014), broiler karkaslardan izole ettiği 156 *C. jejuni* izolatının aralarında Azitromisin, Siprofloksasin, Eritromisin ve Tetrasiklin'inde bulunduğu dokuz farklı antibiyotikte ÇİD oranını %81,4 oranında bildirmiştir.

Bu çalışmada, kaz kloakal örneklerden alınan 151 *C. jejuni* ve 6 *C. coli* türlerinin Azitromisin, Gentamisin, Tetrasiklin, Siprofloksasin ve Ampisiline karşı çoklu ilaç direnç fenotipleri belirlenmiştir. 157 izolatın 144'ü en az bir antimikrobiyal ajana dirençli bulundu. 1 *C. jejuni* suşunda ise 5 antimikrobiyal ajana direnç görüldü. İki ve daha fazla antimikrobiyal ajana direnç gösteren suşlar ÇİD olarak değerlendirildi. Değerlendirme sonunda *C. jejuni* için %57,6 ve *C. coli* için %50 oranında ÇİD profilleri belirlendi. Literatür araştırmalardan Wysok ve ark. (2020) yapmış olduğu araştırmayla benzer olarak iki çalışmada örnek materyalin kazlardan sağlanması ve antibiyotik çeşitliliğinin benzer olmasından kaynaklı ÇİD oranları uyumlu bulundu. Diğer literatür araştırmalarında (Tang ve ark. (2020) Bardon ve ark. (2017), Abay ve ark. (2014a) ve Hızlısoy (2014)) antibiyotik çeşitlilik fazla olması ve örnek materyalin tavuklardan elde edilmesi ÇİD oranlarında farklı sonuçlara sebep olduğu düşünülmektedir. Çünkü günümüzde özellikle tavuklarda antibiyotik kullanımının terapötik ve subterapötik olarak bilinçsizce kullanılması bu

hayvanlarda hem antibiyotik direçte hem de çoklu ilaç direncinde artışla sonuçlanabilmektedir.

Kampilobakter enfeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotiklerden olan makrolidlere karşı bakteriyel direnç genellikle kampilobakterlerin ya kromozomal DNA' da bulunan ya da bir plazmid tarafından taşınan *ermB* geni ile ilişkilidir. Bu gen tek başına makrolidlere yüksek düzeyde direnç sağlayabilmektedir (Qin ve ark. 2014). *ermB* geni *aacA-aphD*, *sat4*, *aphA-3*, *fosXCC*, *aad9* ve *tet (O)* direnç genleri dâhil çok sayıda antibiyotik sınıfına karşı dirence aracılık etmektedir. Domuz, tavuk, ördek ve insanlar olmak üzere çeşitli kaynaklardan izole edilen *C. jejuni* ve *C. coli* türlerinde *ermB* direnç geni tanımlanmıştır (Wang ve ark. 2014).

*ermB*' nin aracılık ettiği direnç mekanizması önemlidir çünkü bu gen, Kampilobakter suşları arasında makrolit direncini yatay olarak aktarabilir ve yüksek oranda direnç sağlayabilir (Qin ve ark. 2014). Tang ve ark. (2020) yapmış olduğu çalışmada, tavuk dışkı örneklerinden 45 *C. jejuni* ve 25 *C. coli* izole etmiş ve %82,6 oranında fenotipik Azitromisin direnci belirlemiştir. Direnç görülen izolatlardan gerçekleştirdiği PCR sonucu 30 *C. jejuni* ve 19 *C. coli* olmak üzere toplamda %70 (49) *ermB* geni bulmuştur. Marotta ve ark. (2020), İtalya'da 15 farklı türde vahşi kuşlardan izole ettiği 135 *C. jejuni*' den fenotipik olarak makrolid direncini 3 (%4,2) oranında tespit etmiş fakat dirençli izolatlarda direçte sorumlu tutulan *ermB* geninin tespiti ile ilgili veri sunulmamıştır.

Bu çalışmada, 151 (%39,3) *C. jejuni* izolatının fenotipik olarak yapılan duyarlılık testi sonucunda Azitromisine dirençli %7,8 (12) *C. jejuni* suşu belirlendi. Azitromisin direnci görülen suşlardan spesifik primerlerle gerçekleştirilen PZR sonucu *ermB* gen amplifikasyonu gözlenmedi. *ermB* gen tespit bulguları Marotta ve ark.(2020) yapmış olduğu araştırmanın sonucuyla benzer bulundu. Tang ve ark. (2020) yapmış oldukları çalışmadaki yüksek oranı ise, hayvansal üretimde yaygın makrolid kullanımından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Termofilik Kampilobakterlerde dâhil olmak üzere birkaç bakteri türünde aminoglikozid direnci, bakterilerin sentezlediği aminoglikozit asetiltransferazlar, aminoglikozid fosfotransferazlar ve aminoglikozid nükleotidiltransferazlar gibi

enzimlerden kaynaklanmaktadır. Kampilobakterdeki Gentamisin direnci, genellikle plazmid aracılı olan ve tipik olarak bir küme halinde organize edilen aminoglikozid fosfotransferazlar yoluyla meydana gelmektedir (Ivone 2013). Aminoglikozid direncine yol açan bu enzimlerin ekspresyonu *aphA-1*, *aphA-3*, *aacA*, *aphD* ve *aac* gibi birçok gen tarafından gerçekleştirilmektedir. Bunlar arasında *aph3* geni, plazmitler veya kromozomlar üzerinden klinik kampilobakterlerde tanımlanmıştır (Lambert ve ark. 1985).

Termofilik Kampilobakter türlerinde yaygın olarak aminoglikozid grubu antibiyotiklere dirence yol açan *aphA-3* direnç geniyle ilgili yapılan bir araştırmada Silva ve ark. (2019), tavuk karkaslarından izole ettikleri Kampilobakter izolatlarından fenotipik olarak tanımlanan dirençli suşlardan *aphA-3* direnç geninin varlığını PZR ile analiz sonucu *C. jejuni*'de %57,14 ve *C. coli*'de %25 oranında tespit etmiştir. Duarte ve ark. (2014), insan ve hayvan orjinli 6 *C. coli* suşunun 3'ünde *aphA-3* genini saptamışlardır. Bardon ve ark. (2017), bir insan *C. jejuni* izolatında ve domuz karaciğerinden elde edilen bir *C. coli* izolatında *aphA-3* Gentamisin direnç genini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, kaz kloakal örneklerden izole edilen ve fenotipik olarak Gentamisin direnci belirlenen 19 (%12,6) *C. jejuni* izolatının PZR analizi sonucu 10 (%52,7)'unda *aphA-3* direnç geni varlığı tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). *aphA-3* direnç gen bulguları Silva ve ark. (2019) yapmış olduğu araştırma ile uyumlu bulundu. Fakat diğer araştırmalarda (Duarte ve ark. (2014), Bardon ve ark. (2017)) veri değerlerinin az olmasından dolayı değerlendirme yapılamadı.

Kampiyobakter türlerindeki Tetrasiklin direncine öncelikle bir ribozomal koruma proteini *tetO* aracılık eder (Gibreel ve ark. 2004). *tetO* geni plazmidlerden kodlanmış bir gen olarak transfer edilebilir veya kromozomda bulunabilir. Başka bir ribozomal koruma proteini olan *tetS* de aynı yapıya sahiptir. *TetA* ve *tetB* genleri dışa akış pompasından sorumlu genlerdir ve Tetrasiklin ilacını hücreden dışarı atan proteinleri kodlamaktadırlar (Chopra ve Roberts 2001).

Tetrasiklin direncinde rol oynayan *tetO* geni ile ilgili Obeng ve ark. (2012) yapmış olduğu araştırmada, kanatlı dışkı örneklerinden izole ettiği 62 termofilik

Kampilobakter izolatında %40,7 oranında *tetO* geni tespit etmiştir. Bardon ve ark. (2017), kümes hayvanlarından 78 termofilik Kampilobakter izole etmiş ve 30'unu fenotipik olarak Tetrasiklin'e dirençli bulmuştur. Direnç görülen izolatların 18 (%50,4)'inde ise *tetO* direnç geni tespit etmiştir. Abdi-Hachesoo ve ark. (2014), tavuk karkaslarından elde ettiği 83 termofilik Kampilobakter izolatında %83,1 oranında *tetO* direnç geni tespit etmiştir. Ülkemiz ise Hızlısoy (2014), fenotipik olarak Tetrasiklin direnci belirlediği 99 *C. jejuni* suşunda %86,8 oranında *tetO* direnç geni tespit etmiştir.

Bu çalışmada, kaz kloakal sıvı örneklerinden izole edilen 157 termofilik Kampilobakter izolatının antibiyogram duyarlılık testi sonucunda 63 (%41,7) *C. jejuni* ve 2 (%33,3) *C. coli* olmak üzere toplam 65 (%41,4) izolatta Tetrasiklin direnci görüldü. Direnç görülen izolatlarda *tetO* gen bölgesine özgü primerler kullanılarak yürütülen PZR sonucunda, 58 (%98,3) *C. jejuni* ve 1 (% 1,7) *C. coli* olmak üzere toplam 59 (%90,8) *tetO* direnç geni tespit edildi. Direnç gen oranı *C. jejuni* özelinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Tespit edilen *tetO* gen oranı literatür çalışmalarındaki oranlarla benzer bulundu. Bu kapsamda Tetrasiklin direnci görülen izolatların büyük bir kısmında *tetO* direnç geninin tespit edilmesi direncin önemli bir kısmında bu genin sorumlu olduğu ve *tetO* geni bulunamayan izolatlarda ise dirence sebep olan diğer direnç genlerin (*tetA*, *tetS* ve *tetB*) varlığından kaynaklı olabileceği düşünüldü.

Termofilik Kampilobakter'lerde florokinolonlara karşı ana direnç mekanizmasına, *gyrA'* nın kinolon direnci belirleyen bölgesindeki nokta mutasyonları aracılık eder. Özellikle, *gyrA'* nın kinolon direncini belirleyen bölgesindeki tek nokta mutasyonu, Kampilobakter'lerin florokinolonlara olan antimikrobiyal direncin artması için yeterlidir. Kampilobakterlerde *T86I*, *T86K*, *A70T* ve *D90N* dahil birçok dirençle ilişkili mutasyonlar bildirilmiştir. Kampilobakterlerde florokinolon direncine yol açan en yaygın mutasyon girazda *T86I* ikamesine yol açan *gyrA* genindeki *C257T* değişikliğidir ( Luangtongkum ve ark. 2009).

Termofilik Kampilobakter'lerin sebep olduğu infeksiyonlarda kullanılan florokinolon direnci ile ilgili Bakeli ve ark. (2008), kanatlı örneklerinden izole edilen

Siprofloksasine dirençli 55 *C. jejuni* suşunun 37 (%67,3)'sinde *gyrA* direnç geni belirlenmiştir. Duarte ve ark. (2014) insan, hayvan ve karkaslardan elde edilen izolatlardan kinolonlara karşı 89 *C. jejuni* ve 107 *C. coli* suşlarında direnç belirlenmiş ve direnç görülen suşlardan *C. jejuni*'de %92,1 ve *C. coli*'de %90,7 oranında *gyrA* gen bölgesinde nokta mutasyonlar belirlenmiştir. Hızlısoy (2014), broyler karkas örneklerinden 139 kinolon dirençli *C. jejuni* belirlenmiş ve dirençli suşlardan %82,7 oranında dirençten sorumlu *gyrA* gen mutasyonu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, fenotipik olarak belirlenen duyarlılık test sonuçlarına göre 116 (%76,8) *C. jejuni* ve 2 (% 33,3) *C. coli* olmak üzere toplam 118 (% 75,2) Kampilobakter izolatında Siprofloksasin direnci görüldü. Direnç görülen izolatlardan *gyrA* gen bölgesinin PZR analizi sonucu %50,8 (59 *C. jejuni* ve 1 *C. coli*) oranında direnç geni tespit edildi. *C. jejuni* suşlarında tespit edilen direnç gen oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). *C. coli* için sayı yetersizliğinden dolayı analiz yapılamadı. Bu kapsamda, *gyrA* direnç gen oranı Bakeli ve ark. (2008), Duarte ve ark. (2014) ve Hızlısoy (2014)'un yapmış oldukları çalışmalar ile benzer bulundu. Farklı direnç gen oranlarında ise *gyrA* gen bölgesinde dirence sebep olan farklı mutasyonlardan kaynaklı oluşabileceği düşünüldü.

Ampisilin ve bazı genişletilmiş spektrumlu antibiyotiklerin  $\beta$ -laktamlara olan direnç mekanizmaları değişkendir (Tajada ve ark. 1996). Kampilobakterlerin  $\beta$ -laktam antibiyotik direnç mekanizmaları, enzimatik inaktivasyon, azaltılmış içe alım ve eflüks pompası şeklindedir (Griggs ve ark. 2009). *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının çoğu, çok sayıda  $\beta$ -laktam antimikrobiyal maddeye dirençlidir (Aarestrup ve Engberg 2001). Direnç oluşumu  $\beta$ -laktamaz üretimi ile oluşmakta ve bu tip direnç kazanılmış direnç tipine örnek olarakta gösterilmektedir. (Lachance ve ark. 1991). İlk olarak yapılan bir çalışmada Avustralya'da yapılan bir çalışmada *bla<sub>OXA-61</sub>* tespitine yönelik yapılan bir çalışmada, *C. jejuni* izolatından tanımlanmış ve bu direnç geninin Ampisilin, Pipet-Rasilin ve Karbesiline karşı direnç geliştirdiği belirtilmiştir (Alfredson ve Korolik 2007).

$\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı Kampilobakter'lerin oluşturdukları *bla<sub>OXA-61</sub>* direnç geniyle ilgili dirençle Proietta ve ark. (2020) yapmış olduğu bir çalışmada, broiler tavuklardan Ampisilin dirençli 60 *C. coli* ve 18 *C. jejuni* elde etmiştir. Dirençli

izolatlardan *C. coli*'de %13,2 ve *C. jejuni*' de ise %26 *bla<sub>OXA-61</sub>* direnç tespit etmişlerdir. Bardon ve ark. (2017), kanatlı karkaslarında elde ettiği izolatlardan 48 *C. jejuni* ve 30 *C. coli* izalasyonunda Ampisilin direncini sırasıyla %58,3 ve %56,7 oranında belirlemiştir. Dirençli suşlardan *C. jejuni*'de %84,6 ve *C. coli*' de %94,1 oranında *bla<sub>OXA-61</sub>* geni tespit etmişlerdir. Griggs ve ark. (2009), hem insan hem de kanatlı etlerinden izole ettikleri kampilobakterlerden *C. jejuni*'de %67 ve *C. coli*' de %78 oranında *bla<sub>OXA-61</sub>* direnç genini saptamışlardır.

Bu çalışmada, fenotipik olarak belirlenen test sonuçlarına göre izolatlardan 50 (%33,1) *C. jejuni* ve 3 (%50) *C. coli* olmak üzere toplam 53 (%33,8) termofilik Kampilobakter izolatında Ampisilin direnci görüldü. Direnç görülen izolatlardan *bla<sub>OXA-61</sub>* gen bölgesinin PZR analizi sonucu 17 (% 34) *C. jejuni* ve 2 (% 66,6) *C. coli* olmak üzere toplam %35,2 *bla<sub>OXA-61</sub>* direnç geni belirlendi. *C. jejuni* suşları arasındaki direnç gen oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). *C. coli* suşlarında tespit edilen direnç gen oranı az sayıda olduğu için analizi yapılamadı. Bu kapsamda, belirlenen direnç gen bulguları literatür çalışmalarla (Proietta ve ark. (2020) ve Griggs ve ark. (2009)) benzer bulundu. Bardon ve ark. (2017) sonuçlarından ise daha düşük oranda direnç tespit edildi. Bu durum çevresel faktörler, kanatlıların yetiştirilme biçimleri ve uzun süre antibiyotik kullanımına bağlı nedenlerden kaynaklanabilir.

## 6. SONUÇ

Termofilik Kampilobakterler tavuk, kaz, ördek, hindi gibi birçok kanatlı türünde bağırsak yerleşkesi olan ve bu tür hayvanlarda genelde asemptomatik olarak gelişen etkenlerdir. Bunlar arasında *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* fekal-oral yolla birçok hayvan türüne ve insanlara bulaşarak başta abort ve gastroenteritis olmak üzere bakteriyemi, sistemik infeksiyonlar ve reaktif artrit gibi hastalıklara yol açmaktadır. Gıda kaynaklı infeksiyonlar arasında ilk sıralarda yer alan kampilobakteriyozisin insanlara bulaşının en önemli yolu enfekte veya rezervuar kanatlılara ait kontamine et ve et ürünlerinin yeterince ısıtılmadan tüketimi olup, bu kapsamda kontamine kanatlı karkasları da önemli infeksiyon kaynaklarıdır.

Yüksek besleyici değeri ve düşük kolesterol içeriği ile alternatif protein kaynağı olarak kaz eti ve diğer yan ürünlerinin tüketimi giderek yaygınlaşmakta, hatta aroma ve tekstür konusunda gelenekselliğe önem verilmektedir. Bu kapsamda Kars, geleneksel kaz yetiştiriciliğinin merkezi konumunda olup sadece yetiştiricilik şekli değil aynı zamanda kesim ve işleme teknikleri de geleneksel tarzda olup bu yönüyle kaz karkasları dışkı ile kolaylıkla kontamine olabilmekte ve insan sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir.

Bu çalışmada, yapılan kültürel analizler sonrası kaz bağırsaklarında termofilik Kampilobakter türleri önemli (%39,3) oranlarda tespit edildi. Zoonoz potansiyeli ve dışkıyla yaygın kontaminasyon olasılığı göz önüne alındığında termofilik Kampilobakterlerin kazlarda kloakal kolonizasyonunun halk sağlığı açısından risk oluşturabilecek potansiyelde olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda, termofilik kampilobakter infeksiyonlarının kontrolü için kanatlı çiftliklerinde kullanılan alet ve malzemenin, ayrıca çalışan personelin kişisel temizliğine dikkat edilmeli ve bu konuda bilinçlendirilmelidir. Kesim esnasında gerekli olan hijyen kurallarına uyulmalı ve çevre ile kontaminasyonu mümkün olduğunca önlenmelidir. Ayrıca etken, pişirme esnasında kolayca inaktive olduğundan pişirme sıcaklıklarına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Termofilik Kampilobakterler kanatlı hayvanlarda diğer hayvan türlerine oranla daha iyi kolonize olmaktadır. Bu çalışmada, termofilik Kampilobakterlerin bağırsaklarda kolonizasyon zamanına bakıldığında kuluçka sonrası ilk haftadan

itibaren oluşmaya başladığı, 3. ve 4. haftalarda % 100 'e kadar ulaştığı belirlendi. Ayrıca yeni doğan kazlarda belirlenen yüksek kolonizasyon oranları, mayıs ve haziran gibi sıcak aylara denk geldiğinden izolasyon oranını etkilediği düşünülmektedir. Mevcut çalışmada, alınan örneklerden en yüksek izolasyon oranı %50, 52.5, 65 ve 57.5 ile sırasıyla Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında görüldü. Yüksek izolasyon oranlarının görülmesinde, etkenin mevsim şartlarına uyumu ve değişen beslenme alışkanlıklarının rol oynadığı düşünülmektedir.

Kaz kloakal sıvaplardan izole edilen termofilik *Kampilobakter* türlerinin tanımlanmasında fenotipik yöntemler, moleküler yöntemler (PZR) ve kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) yöntemleri bir arada kullanıldı. Kullanılan bu yöntemlerin tanı değerleri birbirleriyle uyumlu bulundu. Ancak, fenotipik testlerin zahmetli olması, zaman alması ve izolatların tür ve varyantlarının ortaya çıkarılmasında kısmen yetersiz olması nedeniyle termofilik *kampilobakter*lerin gerek dışkıda gerekse karkaslarda spesifik olarak tanımlanmasına imkan tanıyan daha güvenilir ve daha hızlı test yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, hem PZR hem de MALDI TOF MS ile yapılan tanımlamalar uyumlu bulundu. Fakat tanımlanma süreleri açısından, 100'den fazla örnek MALDI-TOF MS ile %99,9 güven aralığında birkaç saate tamamlanabilmiştir. Birçok bilim alanında kullanım örnekleri olan ve mikrobiyolojide yenilikçi bir yaklaşım sunan MALDI-TOF MS yönteminin, yüksek hassasiyeti, hızlı oluşu ve pratik kullanım özelliği sayesinde Veteriner Mikrobiyoloji alanında spesifik etkenlerin kısa süreli ve doğru teşhisinde başvurulabilir bir teknik olma potansiyelinin de araştırıldığı bu çalışmada, bu alanda planlanacak yeni çalışmalara öncülük edebileceği düşünülmektedir. Ayrıca MALDI-TOF MS'in Veteriner Mikrobiyoloji alanında ve termofilik *Kampilobakter* konulu çalışmalarda kullanılabilirliği konusunda literatürel katkı da sağlanmış oldu.

Patojen mikroorganizmaların doğru identifikasyonu kadar antimikrobiyal maddelere olan duyarlılıklarının saptanması da önemlidir. İnsanlarda, termofilik *Kampilobakter* infeksiyonları makrolidler, florokinolonlar, aminglikozitler, tetrasiklinler gibi antimikrobiyallerle büyük ölçüde tedavi edilebilmektedir. Bu doğrultuda insanlar için önemli infeksiyon kaynağı olan kanatlı etleri başta olmak üzere, kloakal içerik ve taze dışkı gibi örneklerden etken izolasyonunun yanı sıra bu izolatların antimikrobiyal madde duyarlılık profillerinin belirlenmesi olası insan



infeksiyonlarında kullanılmak üzere yararlanılabilecek ve spesifik etken hatta ilgili gen düzeyinde tedavi rejiminin planlanmasında yarar sağlayacaktır. Bu çalışmada, kazlardan elde edilen termofilik *Kampilobakter*lerin, makrolid ve aminoglikozid grubu antimikrobiyallere direnci oldukça düşük saptanmış ve bu grup ilaçlar *Kampilobakter* infeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilebilir antimikrobiyaller olarak belirlenmiştir. İzolatlar arasında florokinolon, tetrasiklin ve beta-laktam antimikrobiyallere direnç daha yüksek saptanmıştır. Bu direncin oluşmasında dünya genelinde antimikrobiyal ilaçlara erişimin sınırsız ve kolay olmasına ilaveten kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde, özellikle profilaktik ve gelişmeyi hızlandırıcı olarak antibiyotiklerin uzun süre düşük konsantrasyonlarda yemlerde ve içme sularında ilavelerinden kaynaklı olabileceğine yorumlanmıştır.

Antibiyotik dirençliliği infeksiyonların sağaltımında oldukça önemli bir klinik problemdir. Dirençten sorumlu genlerin tanımlanması direnç epidemiyolojisinin ortaya konulması, uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve önleyici tedbirlerin doğru planlanması açısından önemlidir. Bu çalışmada, ilgili antibiyotiklerde yaygın olarak bulunan *tetO*, *aphA-3*, *gyrA*, *bla<sub>OXA-61</sub>* ve *ermB* direnç genleri PZR yöntemi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucu %90,8 *tetO*, % 52,7 *aphA-3*, %50 *gyrA* ve %35,2 *bla<sub>OXA-61</sub>* direnç geni tespit edilirken *ermB* direnç gen amplifikasyonu gözlenmedi.

## 7. KAYNAK

Aarestrup FM and Engberg J (2001). Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. *Veterinary Research* 32: 311–321

Abay S, Aydın F, Hızlısoy H ve Güneş V (2014b). Recovery of Thermophilic *Campylobacter* spp. in Healthy and Diarrhoeic Pets by Three Culture Methods and Identification of the Isolates by Multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR). *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 20 (5): 735-741.

Abay S, Kayman T, Otlu B, Hızlısoy H, Aydın F. and Ertaş N. (2014a). Genetic diversity and antibiotic resistance profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry and humans in Turkey. *International Journal of Food Microbiology* 178, 29-38.

Abdi-Hachesoo B, Khoshbakht R, Sharifiyazdi H, Tabatabaei M, Hosseinzadeh S, Asasi K (2014). Tetracycline Resistance Genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolated From Poultry Carcasses. *Jundishapur J Microbiol*;7:e12129. doi: 10.5812/jjm.12129.

Acke E, McGill K, Golden O, Jones, B, Fanning S and Whyte P (2009). Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. *The Veterinary Record* 164, 44-47.

Ahmed W, Hotzel H, Abd El-Tawab AA, El Hofy FI, Sobhy MM (2019). Phenotypic and genotypic characterization of *Campylobacter* isolated from poultry. *Benha Veterinary Medical Journal* 37,2; 33-36

Aho M, Kauppi M and Hirn J (1988). The stability of small number of campylobacteria in four different transport media. *Acta Vet Scand* 1988; 29: 437-442

Alaboudia AR, Malkawi İM, Osailib TM, Abu-Bashae EA and Guitian J (2020). Prevalence, antibiotic resistance and genotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from chickens in Irbid governorate, Jordan. *International journal of food microbiology* 327-108656

Alfredson D and Korolik V (2007). Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiol Lett* 277, 123–132

Alfredson DA and Korolik V (2007). Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiology Letters* 277, 123-132.

Allos B M, Gorbach S L, Bartlett J G, Blacklow NR (2004). *Campylobacter Infectious Diseases*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 3rd Edition, p: 1686-1691.

Allos BM (2001). *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis*;32:1201–6.

Allsup TN (1985): *Ovine Campylobacter Abortion*, Luxembourg, Commission of the European Communities, 93-107.

Altekruse SF and Tollefson KL (2003). Human *Campylobacteriosis*: a challenge for the veterinary profession. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223:445-452. [bacterReport1.pdf](#)

Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI and Swerdlow DL (1999). *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. *Emerging Infect. Dis.* 5:28-35.

Andersen SR, Saadbye P, Shukri NM et al. (2006). Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark. *Int J Food Microbiol*;107:250-255

Andersson MI and MacGowan AP (2003). Development of the quinolones. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51(Suppl. 1): 1–11.

Andrews JM (2009). For the BSAC Workin Party on Susceptibility Testing. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 8). *J Antimicrob Chemother*, 64: 454-89.

Anon (1995). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization (ISO)10272

Anonim 1: Wikipedia, 2019. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Kars> Erişim: 02.08.2020

Anonim 2: Kars Gıda, Tarım ve Hayvancılık Sektörü, 2018.pdf

Anonim 3: <https://www.surveysystem.com/sscalc.htm>. Erişim: 05.09.2020

Anonim 4: <https://www.tarimorman.gov.tr/> Kanatlı Yetiştiriciliği. 07.09.2020

Anonim 5: Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization (ISO)10272.

Anonim 6: [www.mikrobiology.org/TR](http://www.mikrobiology.org/TR).Erişim: 12.08.2020

Anonim 7: <https://docplayer.biz.tr/60179814-Campylobacter-kampilobakter-cinsi.html> (07.06.2020)

Arikoğlu Ç ve Aydın F (1997).Kars yöresinden evcil ve yabani hayvanlardan *C. jejuni* Prevelansı. *Kafkas Üniv. Vet. Fak.Derg.* Cilt: 3 Sayı: 2 Sayfa: 173-180.

Arimi SM, Park RW and Fricker CR (1990). Study of haemolytic activity of some *Campylobacter* spp. on blood agar plates. *J. Appl. Bacteriol.* 69(3):384–389.

Aspinall GO, McDonald AG, Pang H, Kurjanczyk LA, and Penner JL (1994). Lipopolysaccharides of *Campylobacter jejuni* serotype 0:19: structures of the core oligosaccharide regions from the serostrain and two bacterial isolates from patients with the Guillain-Barré syndrome. *Biochemistry* 33:241-249.

Astorga AF, and Alonso R, (2010). *Campylobacter* In: Liu D (Ed), *Molecular detection of food-borne pathogens*. CRC Press Taylor and Francis Group, USA: 345-360.

Ateş Yılmaz A, Tuğrul HM (2005). Edirne’de İshal Etkenleri Arasında *Campylobacter* Türlerinin Yerinin ve Antimikrobiklere Duyarlılıklarının Araştırılması., *İnfeksiyon Dergisi*;19(1): 53-59.

Avrain L, Vernozy-Rozand C, Kempf I. Evidence for natural horizontal transfer of tetO gene between *Campylobacter jejuni* strains in chickens. *J Appl Microbiol* 2004;97:134–140.

Aydın N ve Paracıkoğlu J Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke-Emek yayınları. Bölüm 27, s: 237-249. ISBN: 975-6268-06-9.

Aydın F, Atabay HI and Akan M (2001). The isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* from domestic geese (*Anser anser*). *J. Appl. Microbiol.* 90, 637–642.

Bacon DJ, Alm RA, Hu L, et al., (2002). DNA sequence and mutational analyses of the pVir plasmid of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infect Immun*; 70: 6242–6250

Bailey MA, Taylor RM, Brar JS, Corkran SC, Velásquez C, Rama EN, Oliver HF and Singh M (2019). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* from antibiotic-free broilers during organic and conventional processing. *Poultry Science* 98:1447–1454

Baily J, Méric G, Bayliss S, Foster G, Moss S, Watson E, Pascoe B, Mikhail J, Pizzi R, Goldstone R, Smith D, Willoughby K, Hall A, Sheppard S and Dagleish M (2015). Evidence of land-sea transfer of the zoonotic pathogen *Campylobacter* to a wildlife marine sentinel species. *Molecular Ecology* 24, 208-221.

Bakeli G, Sato K, Kumita W, et al. (2008). Antimicrobial susceptibility and mechanism of quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* strains isolated from diarrheal patients in a hospital in Tokyo. *J Infect Chemother*; 14: 342–348.

Bang DD, Neilsen EM, Scheutz F, Pedersen K, Handberg K and Madsen M (2003). PZR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytolethal distending toxin production of the isolates. *J Appl Microbiol*, 94: 1003-14.

Bardoň J, Pudová V, Koláčková I, Karpíšková R, Röderová M and Kolář M (2017). Virulence and antibiotic resistance genes in *Campylobacter* spp. in the Czech Republic. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 66, č. 2, s. 59–66

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*;45:493-6.

Baumgartner A and Felleisen R, (2011). Market surveillance for contamination with thermotolerant *Campylobacter*s on various categories of chicken meat in Switzerland. *J Food Protection*;74(12):2048—54.

Baylis C, MacPhee S, Martin K, Humphrey T and Betts R (2000). Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods. *Journal of Applied Microbiology* 89, 884-891.

Beery JT, Hugdahl MB and Doyle MP (1988). Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ Microbiol* 54:2365–2370.

Besse`de E, Solecki O, Sifre` E, Labadi L and Me`graud F (2011). Identification of *Campylobacter* species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*; 17: 1735–1739

Bessede E, Angla-Gre M, Delagarde Y, Sep Hieng S, Menard A, Megraud F (2010) MALDI BIOTYPER, experience in the routine of a University hospital. *Clin Microbiol Infect.* doi: 10.1111/j.1469- 0691.2010.03274.

Besser T, LeJeune J, Rice D, Berg J, Stilborn R, Kaya K, Bae W and Hancock D (2005). Increasing prevalence of *Campylobacter jejuni* in feedlot cattle through the feeding period. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 5752-5758.

Bilgehan H (2005). *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi Uygulama Konuları ile (11ci Baskı)*, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir: 227-251

Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G, Prod'hom G. (2010). Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*; 48: 1549–1554.

Blaser M (1997). Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *The Journal of Infectious Diseases* 176, S105.

Blaser MJ and Allos BM (2005). *Campylobacter jejuni* and related species, p. 2548-2557. In G. L. Mandell, J. E. Bennet and R. Dolin (ed.), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa.

Bolton DJ (2015). *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol. Jun*;48:99–108.

Bolton F, Hutchinson D and Coates D (1984). Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Journal of Clinical Microbiology* 19, 169-171.

Bolton FJ and Robertson L (1982). A selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol*; 35: 462-467

Bolton FJ, Coates D, Hinchliffe PM and Robertson L (1983). Comparison of selective media for isolation of *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol*; 36: 78-83

Bondi A, Pfaff F, Free E, Swerlick R (1954). Public health aspects of the development of antibiotic-resistant staphylococci. *Am J Public Health Nations Health*;44:789–93

Bonnedahl J and Järhult JD (2014). Antibiotic resistance in wild birds. *Ups J Med Sci. ;119(2)*:113-6

Borucu R (2017). Klinik örneklerden *Campylobacter* türlerinin üretilmesinin araştırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun. (Tıpta Uzmanlık)*

Boz MA ve Sarıca M (2018). Türkiye’de Kaz Yetiştiriciliğinin Durumu ve Geleceği. *Türkiye Kaz Yetiştiriciliği Çalıştay Sonuç Raporu, Yozgat.*

Broman T, Palmgren H, Bergstrom S, Sellin M, Waldenstrom J, Danielsson-Tham ML, Olsen B. (2002). *Campylobacter jejuni* in blackheaded gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *J Clin Microbiol* 40:4594 –4602.

Buchanan C (2018). Development of a molecular-based risk assessment assay for human pathogenic *Campylobacter jejuni*, Department of Biological Sciences University of Lethbridge. CANADA

Burnens A, Angéloz-Wick B and Nicolet J (1992). Comparison of *campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 39, 175-180.

Buswell CM, Herlihy YM, Lawrence LM, Mcguiggan JTM, Marsh PD, Keevil CW and Leach SA (1998). Extended survival and presence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunoflorescent antibody and Rrna staining. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:733-741.

Butler RC, Lund V and Carlson DA (1987). Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* to UV Radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (2), 375-378.

Butzler JP (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical Microbiology and Infection.* 10:868-876.

Büyükünal SK (2017). İstanbul'da Satışa Sunulan Piliç Etlerinde Termotolerant *Campylobacter* spp. Prevalansı ve Antibiyotik Dirençliliği. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. / J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ.*, 43 (2), 98-109.

Cappelier J, and Federighi M (1998). Demonstration of viable but non-culturable state for *Campylobacter jejuni*. *Revue De Medecine Veterinaire* 149, 319-326.

Cappelier JM, Minet J, Magras C, Colwell R, Federighi RM. (1999). Recovery in embryonated eggs of viable but nonculturable *Campylobacter jejuni* cells and maintenance of ability to adhere to hela cells after resuscitation. *Appl Environ Microbiol*; 65: 5154-5157

Carter AM, Pacha RE, Clark GW, Williams EA (1987). Seasonal occurrence of *Campylobacter* spp. in surface waters and their correlation with standard indicator bacteria. *Appl Environ. Microbiol.* 53 (3): 523-526.

Carvalho ACT, Ruiz-Palacios GM, Ramos-Cervantes P, et al. (2001). Molecular characterization of invasive and noninvasive *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. *J Clin Microbiol*; 39: 1353–1359

Cawthraw S, Lind L, Kaijser B and Newell D (2000). Antibodies, directed towards *Campylobacter jejuni* antigens, in sera from poultry abattoir workers. *Clinical & Experimental Immunology* 122, 55-60.

CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States. (2019) <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>.

Chaisowwong W, Kusumoto A, Hashimoto M, Harada T, Maklon K and Kawamoto K (2012). Physiological characterization of *Campylobacter jejuni* under cold stresses conditions: its potential for public threat. *Journal of Veterinary Medical Science* 74, 43-50.

Chaveerach P, Huurne AAHM, Lipman LJA and van Knapen F (2003). Survival and resuscitation of ten strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* under acid conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (1), 711-714.

Chopra IT and Roberts M (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.*;65(2):232-60

Chu DT (1999). Recent developments in macrolides and ketolides. *Curr Opin Microbiol* 2:467–474.

Cilavdaroğlu E, Yamak US ve Boz MA (2020). Etlik kaz yetiştiriciliği, *Black Sea Journal of Agriculture* 3(1): 66-70.

Cloak MO, Duffy G, Sheridan JJ, Blair IS and Mc Dowell DA (2001). A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of a Surface Adhesion Polymerase Chain Reaction (Sa-Pcr) assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. *Food Microbiol.* 18:287-298.

CLSI (2008). Development of In vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters for Veterinary Antimicrobial Agents-Third Edition: Approved Guideline M37-A3. Wayne, PA, USA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008a

CLSI (2008). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals-Third Edition: Approved Standard M31-A3. Wayne, PA, USA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008b

CLSI (2017). M 100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition. January 2017

Colles F, Jones T, McCarthy N, Sheppard S, Cody A, Dingle K, Dawkins M and Maiden M (2008). *Campylobacter* infection of broiler chickens in a free-range environment. *Environmental Microbiology* 10, 2042-2050.

Colles FM, Ali JS, Sheppard SK, McCarthy ND, Maiden MC (2011). *Campylobacter* populations in wild and domesticated mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Environ Microbiol Rep* 3:574 –580

Collins CH, Lyne PM, Grange JM and Falkinham JO (2004). Collins&Lyne's Microbiological Methods (8th ed), Arnold Publisher, UK : 174-316

Comite de l'Antibiogramme de la Societe Française de Microbiologie (CA-SFM) (2009). Groupe de travail: Antibiogramme veterinaire, recommandations.

Communicable Disease Surveillance Centre (P.H.L.S.) and Communicable Diseases (Scotland) Unit, *Campylobacter* infections in Britain (1977), *Brit. Med. J.*, 1978: 1- 1357.

Connell SR, Trieber CA, Dinos GP, Einfeldt E, Taylor DE and Nierhaus KH (2003). Mechanism of Tet(O)-mediated tetracycline resistance. *The EMBO Journal* 22: 945–953.

Connerton IF, Connerton PI, Barrow P, Seal BS, Atterbury RJ, Bacteriophage Therapy and *Campylobacter* In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter* (2008). 3rd ed. Washington DC, ASM Press: p 679-693.

Cools I, Uyttendaele M, Caro C, D'haese E, Nelis HJ and Debevere J (2003). Survival of *Campylobacter jejuni* Strains of Different Origin in Drinking Water. *Journal of Applied Microbiology*, 94, p:886-892.

Corcoran D, Quinn T, Cotter L and Fanning S (2006). An investigation of the molecular mechanisms contributing to high-level erythromycin resistance in *Campylobacter*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 27: 40–45.

Corry JEL, Post DE, Colin P, et al. (1995). Culture media for the isolation of *Campylobacter*s. *Int J Food Microbiol.*; 26(1):43-76

Crawshaw T and Young S (2003). Increased mortality on a free-range layer site. *Vet. Rec.* 153, 664.

Crushell E, Harty S, Sharif F and Bourke B (2004). Enteric Campylobacter: purging its secrets? *Pediatr. Res.* 55:3-12.

Çakmak Ö (2009). Hindi Etlerinde Campylobacter jejuni' nin Kültür Tekniği ve PCR ile Saptanması. [Doktora tezi]. Ankara, Türkiye: Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Ankara.

Çiftçi A ve Aksoy A (2015). Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*;1(2)

Çokal Y, Caner V, Sen A, Çetin C and Karagenc N (2009). Campylobacter spp. and their antimicrobial resistance patterns in poultry: An epidemiological survey study in Turkey. *Zoonoses and Public Health* 56, 105-110.

Çöleri A ve Çökmüş C (2008). Enterokok türlerinde glikopeptid grubu antibiyotiklere dirençin moleküler mekanizmaları ve gen aktarım yolları. *Türk Hijy Den Biyol Derg*;65(2):87-96.

Da S, Quetz J, Lima IFN, Havt A, et al. (2012). Campylobacter jejuni infection and virulence associated genes in children with moderate to severe diarrhoea admitted to emergency rooms in Northeastern Brazil. *J Med Microbiol*; 61: 507-513

Delicato ER, de Brito BG, Konopatzki AP, Gaziri LC, and Vidotto MC (2002). Occurrence of the temperature-sensitive hemagglutinin among avian Escherichia coli. *Avian Dis* 46:713-716.

Di Giannatale E, Garofolo G, Alessiani A, Di Donato G, Candeloro L, Vencia W, Decastelli L and Marotta F (2016). Tracing Back Clinical Campylobacter jejuni in the Northwest of Italy and Assessing Their Potential Source. *Front. Microbiol.*, 7, 23.

Diker KS (1986). Istanbuluoğlu E. Ovine abortion associated with Campylobacter jejuni. *Vet Rec*;118: 307

Diker KS (2008) Campylobacter ve Enterobakterilerde Quinolone ve Çoklu Antibiyotik Dirençliliğinin Genetik Analizi. Proje Numarası: 200308056. Ankara Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri,

Doyle L (1944). A Vibrio associated with swine dysentery. *American Journal of Veterinary Research* 5, 3-5.

Doyle MP (1981). Campylobacter fetus subsp. jejuni: an old pathogen of new concern. *J. Food Prot*; 44: 480-488, J.M.: Pathogenesis of Enteric Infection by Campylobacter. *Microbiol.* 143: 5-21, 1997.

Doyle MP and Roman DJ (1981). Growth and survival of Campylobacter fetus subsp. jejuni as a function of temperature and pH. *Journal of Food Protection*, 44, 596-601.

Duarte A, Santos A, Manageiroc V, Martins A, Fraqueza MJ, Canic M, Domingues FC and Oleastro M (2014). Human, food and animal Campylobacter spp. isolated in Portugal: High genetic diversity and antibiotic resistance rates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 44, 306-313.

DuPont HL (2007). Azithromycin for the self-treatment of traveler's diarrhea. *Clin. Infect. Dis.* 44, 347-349.



Eberhart-Philips J, Walker N, Garrett N, Bell D, Sinclair D, Ranger W, Bates M. (1997). Campylobacteriosis in New Zealand: result of a case-control study. *J Epidemiol Comm Hlth*; 51: 686–91.

Eberle K, and Kiess A (2012). Phenotypic and genotypic methods for typing *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in poultry. *Poultry Science* 91, 255-264.

EFSA: European Food Safety Authority, 2018.(Erişim: 01.08.2020)

EFSA: European Food Safety Authority,2017.(Erişim:12.08.2020)

Ekdahl K, and Andersson Y (2004). Regional risks and seasonality in travel-associated campylobacteriosis. *BMC Infectious Diseases* 4, 1-7.

El-Adawy H, Ahmed MFE, Hotzel H, Tomaso H, Tenhagen BA, Hartung J, Neubauer H and Hafez HM (2015). Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* recovered from organic turkey farms in Germany. *Poult Sci.*;94(11):2831-7.

Ellis-Iversen J, Ridley A, Morris V, Sowa A, Harris J, Atterbury R, Sparks N, Allen V (2012). Persistent environmental reservoirs on farms a risk factors for *Campylobacter* in commercial poultry. *Epidemiol Infect* 140:916 –924.

Elmalı M, Yaman H, Ulukanlı Z ve Genctav K (2004). Kaz karkası, kloakası, altlığı ile kaz, tavuk ve bildircin yumurtalarından *Campylobacter jejuni*'nin identifikasyonu. *Vet. Bil. Derg*, 20, 4: 47-52

Engberg J, Neimann J, Nielsen EM, Aarestrup FM and Fussing V (2004). Quinolone-resistant *Campylobacter* infections in Denmark: risk factors and clinical consequences. *Emerging Infectious Diseases* 10, 1056-1063.

Epe B, Woolley P and Hornig H (1987). Competition between tetracycline and tRNA at both P and A sites of the ribosome of *Escherichia coli*. *FEBS Lett* 213:443– 447.

Erbay UO: Hindi Kalp ve Karaciğerinde *Campylobacter* Türlerinin Varlığı. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 2006.

Ericsson HM and Sherris JC (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an International Collaborative Study. *Acta Pathol Microbiol Scand B Microbiol Immunol*;217(Suppl. 217):1–90

Es-soucratti K, Hammoumi A, Bouchrif B, Asmai R, En-nassiri H and Karraouan B (2020). Occurrence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry in Casablanca-Settat, Morocco. *Italian Journal of Food Safety*; 9:8692.

Ethelberg S, Olsen K, Gerner-Smidt P and Molbak K (2004). Household outbreaks among culture-confirmed cases of bacterial gastrointestinal disease. *American Journal of Epidemiology* 159, 406-412.

Falagas ME, Grammatikos AP and Michalopoulos A (2008). Potential of old-generation antibiotics to address current need for new antibiotics. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 6:593–600.

Fallacara D, Monahan C, Morishita T and Wack R (2001): Fecal shedding and antimicrobial susceptibility of selected bacterial pathogens and a survey of intestinal parasites in freeliving waterfowl. *Avian Dis.* 45, 128–135.

Faltyn AB, Bartodziejska B, Krolasik J, Domanska BP, Korsak D and Chmiel M (2008). The Prevalence of *Campylobacter* spp. in Polish Poultry Meat. *Polish Journal of Microbiology.*, Vol. 67, No 1, 117–120

FAO (2016). Agriculture data. Agricultural production

Fernando U, Biswas D, Allan B, Willson P and Potter AA (2007). Influence of *Campylobacter* *Jejuni* *Flia*, *Rpon* and *Flgk* genes on colonization of chicken gut. *Int. J. Food Microbiol.* 118:194-200.

Field LH, Headley VL, Payne SM and Berry LJ (1986). Influence of iron on growth, morphology, outer membrane protein composition, and synthesis of siderophores in *Campylobacter* *Jejuni*. *Infect. Immun.* 54:126-132.

Fitzgerald C (2015). *Campylobacter*. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 289–298. doi:10.1016/j.cll.2015.03.001.

Fitzgerald C and Nachamkin I (2011). *Campylobacter* and *Arcobacter* In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C, p. 885-899

Fitzgerald C, Whichard J and Fields PI (2009). The Genus *Campylobacter*, In: Goldman E, Green LH (eds), *Practical Handbook of Microbiology*. 2nd ed. USA, CRC Press, Taylor & Francis Group, p 564-574

Fitzgerald C, Whichard J and Nachamkin I (2008). Diagnosis and Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter* species. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. : p 227-244

Fraqueza MJ, Martins A, Borges AC, Fernandes MH, Fernandes MJ, Vaz Y, Bessa RJB and Barreto AS (2013). Antimicrobial resistance among *Campylobacter* spp. strains isolated from different poultry production systems at slaughterhouse level . *2014 Poultry Science* 93 :1578–1586/ <http://dx.doi.org/10.3382/ps.-03729>

Fraqueza MJ, Ribeiro SA, Pereira SC, Fernandes MH, Fernandes MJ and Barreto AS (2016). Genetic and antibiotic resistance profiles of thermophilic *Campylobacter* spp. isolated from quails (*Coturnix coturnix japonica*) in a Portuguese slaughterhouse. *Food Con*;59:337–344.

Friedman C, Hoekstra R, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B, Reddy S, Ahuja S, Helfrick D, Hardnett F, Carter M, Anderson B and Tauxe R (2004). Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: a case-control study in FoodNet sites. *Clinical Infectious Diseases* 38, S296.

Friedman SM, Lu T and Drlica K (2001). Mutation in the DNA gyrase A gene of *Escherichia coli* that expands the quinolone resistance-determining region. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45: 2378–2380.

Fullerton K, Ingram L, Jones T, Anderson B, McCarthy P, Hurd S, Shiferaw B, Vugia D, Haubert N, Hayes T, Wedel S, Scallan E and Harvey SM (1980): Hippurate hydrolysis by *Campylobacter fetus*, *J Clin Microbiol*; 11 : 435–437.

Galanis E (2007). *Campylobacter and Bacterial Gastroenteritis.*, *CMAJ*, p:176-177, Sept.

Garcia MM, Lior H, Stewart RB, Ruckerbauer GM, Trudel JR and Skljarevski A (1985) : Isolation, Characterization, and Serotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Slaughter Cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 667-672.

Garenaux A, Luchetti-Miganeh C, Ermel G, Barloy-Hubler F, De Jonge R, Newell D, Payot S, Federighi M, Tresse O, Guillou S and Ritz M. (2008). Better Understanding of the *Campylobacter conundrum*. Nova Science Publishers, Inc., USA3-40

Garrity GM (2001). The Archaea And The Deeply Branching And Phototrophic Bacteria. In: *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*, Vol.1, 2nd Edition Editörler: Boone, D.R., Garrity, G., Castenholz, R.W. Williams & Wilkins, SpringerVerlag, New York.

Gautret P, Cramer JP, Field V, Caumes E, Jensenius M, GkraniaKlotsas E, de Vries PJ, Grobusch MP, Lopez-Velez R, Castelli F, Schlagenhauf P, Hervius Askling H, von Sonnenburg F, Lalloo DG, Loutan L, Rapp C, Basto F, Santos O'Connor F, Weld L and Parola P (2012). Infectious diseases among travellers and migrants in Europe, EuroTravNet 2010. *Euro Surveill* 17:20205.

George M, Garrity Julia A, Bell L, Timothy L Class V. Epsilonproteobacteria, In: Brenner, Krieg, Staley, and Garrity (ed.) (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, The Proteobacteria, Part C, Alpha, Beta, Delta, and Epsilonproteobacteria, Springer, New York: 1145-1166.

Gerlach H, *Bacteria* In: Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison LR (eds) (1994). *Avian Medicine: Principles and Application*. Wingers Publishing, Inc, Lake Worth, Florida : p 949-983

Giacoboni G, Itoh K, Hirayama K, Takahashi E and Mitsuoka T (2013). Comparison of fecal *Campylobacter* in calves and cattle of different ages and areas in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 55, 555-559.

Gibreel A, Sko" ld O and Taylor DE (2004). Characterization of plasmid-mediated *aphA-3* kanamycin resistance in *Campylobacter jejuni*. *Microb Drug Resist* 10:98–105.

Gibreel A, Wetsch NM and Taylor DE (2007). Contribution of the *CmeABC* efflux pump to macrolide and tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51: 3212–3216.

Gonzalez I, Grant KA, Richardson PT, Park SF, Collins MD (1997). Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J Clin Microbiol*; 35: 759-63.

Grajewski B, Kusek J and Gelfand H (1985). Development of a bacteriophage typing system for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of Clinical Microbiology* 22, 13-18.

Griekspoor P, Colles F, McCarthy N, Hansbro PM, Ashhurst-Smith C, Olsen B, Hasselquist D, Maiden CJ and Waldenstrom J (2013): Marked host specificity and lack of phylogeographic population structure of *Campylobacter jejuni* in wild birds. *Mol. Ecol.* 22, 1463–1472.

Griggs DJ, Peake L, Johnson MM, Ghori S, Mott A, Piddock LJ (2009). Beta-lactamase-mediated beta-lactam resistance in *Campylobacter* species: prevalence of Cj0299 (blaOXA-61) and evidence for a novel beta-Lactamase in *C. jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother*;53(8):3357–3364.

Gülmez D, Gür D, Hasçelik G, Güleşen R and Levent B (2012). Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (UEPLA) Dâhil Olan Bir Üniversite Hastanesinin Deneyimleri: Dört Yıllık Salmonella, Shigella ve *Campylobacter* Verileri. *Türk Microbiol Cem Derg*;42(3):85-92.

Gülmez Sağlam A, Akça D, Çelebi Ö, Büyük F, Çelik E, Coşkun MR, Şahin M ve Otlı S (2019). Isolation and molecular identification of *Campylobacter* spp. from vaginal swab sample obtained from sheep herds with abort history. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (5): 697-701.

Hakanen AJ, Lehtopolku M, Siitonen A, Huovinen P and Kotilainen P (2003). Multidrug resistance in *Campylobacter jejuni* strains collected from Finnish patients during 1995-2000. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52, 1035-1039.

Hald B, Wedderkopp A and Madsen M (2000). Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathol.* 29, 123–131.

Hanninen ML, Hakkinen M and Rautelin H (1999): Stability of Related Human and Chicken *Campylobacter jejuni* Genotypes after Passage through Chick Intestine Studied by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(5): 22722275.

Hansson I (2007): Bacteriological and Epidemiological Studies of *Campylobacter* spp. in Swedish Broilers. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Harvey SM (1980): Hippurate hydrolysis by *Campylobacter feus*. *J. Clin. Microbiol.* 11: 435--437.

Hasdemir U (2007).Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu. *Mikrobiyol Bül*; 41:309-327.

Havelaar A, van Pelt W, Ang C, Wagenaar J, van Putten J, Gross U and Newell D (2009). Immunity to *Campylobacter*: its role in risk assessment and epidemiology. *Critical Reviews in Microbiology* 35, 1-22.

Hazeleger WC, Wouters JA, Rombouts FM and Abee T (1998). Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(10):3917-3922

Hedstrom OR, Sonn RJ, Iansen EO, Huugren BD, Crisman AO, Smith BB and Snyder SP (1987). Pathology of *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *Vet. Pathol.* 24, 419-426.

Henao O and Angulo F (2007). Sporadic *Campylobacter* infection in infants: a population-based surveillance case-control study. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 26, 19-24.

Herman L, Heyndrickx M, Grijspeerdt K, Vandekerchove D, Rollier I and De ZL (2003). Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol Infect* 131:1169–1180.

Heuer OE, Pedersen K, Andersen JS and Madsen M (2001). Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 269–274.

Hızlısoy H ve Kılıç H (2015). Broiler karkaslarından izole edilen *Campylobacter jejuni* izolatlarının makrolid, kinolon ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı direnç durumu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 12, 81-92.

Hofshagen M and Kruse H (2005). Reduction in flock prevalence of *Campylobacter* spp. in broilers in Norway after implementation of an action plan. *J Food Prot.* Oct;68(10):2220-3.

Hoge CW, Gambel JM, Srijan A, Pitarangsi C and Echeverria P (1998). Trends in antibiotic resistance among diarrheal pathogens isolated in Thailand over 15 years. *Clin. Infect. Dis.* 26, 341–345. doi: 10.1086/516303

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT and Williams ST (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Baltimore (MD): Williams &Wilkins.

Hopkins R, Olmsted R and Istre G (1984). Endemic *Campylobacter jejuni* infection in Colorado: identified risk factors. *American Journal of Public Health* 74, 249-250.

Horrocks S, Anderson R, Nisbet D and Ricke S (2009). Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and coli in animals. *Anaerobe* 15, 18-25.

Huang H, Brooks B, Lowman R and Carrillo C (2015). *Campylobacter* species in animal, food, and environmental sources, and relevant testing programs in Canada. *Canadian Journal of Microbiology* 61, 701-721.

Huang JF, Hu YH, Hsu JC and Dagher N (2008). Waterfowl production in hot climates. *Poult Product Hot Clim*, 330-375.

Hugdahl MB, Beery JT and Doyle MP (1988): Chemotactic Behaviour Of *Campylobacter Jejuni*. *Infect. Immun.* 56: 1560-1566.

Humphrey T, O'Brien S and Madsen M (2007). *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. *International Journal of Food Microbiology* 117, 237-257.

Hutchinson DN and Bolton FJ (1984) : Improved blood free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. *J. Clin. Pathol.* 37: 956-957.

Iovine NM (2013). Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence*; 4 (3): 230-240

İzgür M *Campylobacter* Enfeksiyonları, (2006). In: Aydın N, Paracıklioğlu J (eds), *Veteriner Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara: 232-245

Jacoby GA (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases* 41(Suppl. 2): S120–S126.

Jamali H, Ghaderpour A, Radmehr B, Wei KSC, Chai LC and Ismail S (2013).Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* speciesisolates in ducks and geese. *Food Control* 50, 328-330.

Jerris RC, Fields PI and Isenberg HD (2004). Fecal Culture for *Campylobacter* and Related Organisms, *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 2nd ed. ASM Press, Washington, 3.8.2.1-3.8.2.19.

Jerris RC, Fields PI and Nicholson MA (2010). Fecal culture for *Campylobacter* and related organisms. Garcia LS, Isenberg HD (Eds). *Clinical Microbiology Procedures Handbook* (2nd ed.). Washington DC, ASM Press:3.8.2.1-3.8.2.16.

Joens LA, Haesebrouck F and Pasmans F (2010). *Campylobacter* and *Helicobacter*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer G, Thoen CO (eds), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 4th ed. Wiley-Blackwell Publishing, USA: p 483-501

Jokinen C, Edge T, Ho S, Koning W, Laing C, Mauro W, Medeiros D, Miller J, Robertson W, Taboada E, Thomas J, Topp E, Ziebell K and Gannon V (2011). Molecular subtypes of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 isolated from faecal and surface water samples in the Oldman River watershed, Alberta, Canada. *Water Research* 45, 1247-1257.

Jones F, Orcutt M and Little R (1931). *Vibrios* (*Vibrio jejuni* sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. *The Journal of Experimental Medicine* 53, 853- 863.

Jones FT, Axtell RC, Rives DV, Scheideler SE, Tarver FR, Walker RL and Wineland MJ (1991). A survey of *Campylobacter jejuni* contamination in modern broiler production and processing systems. *J. Food Protect.* 54:259-262.

Jonker A and Picard JA (2012). Antimicrobial susceptibility in thermophilic *Campylobacter* species isolated from pigs and chickens in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 81 (4), 228–236.

Jorgensen JH and Turnidge JD (2007). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, p. 1152–1172. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, and M. A. Pfaller (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.

Kaakoush NO, Sodhi N, Chenu JW, Cox JM, Riordan SM and Mitchell HM (2014). The interplay between *Campylobacter* and *Helicobacter* species and other gastrointestinal microbiota of commercial broiler chickens. *Gut Pathog* 6:18.

Kahlmeter G and Brown DFJ (2004). Harmonization of antimicrobial breakpoints in Europe—can it be achieved? *Clin Microbiol News*;26:187–92.

Kalupahana RS, Mughini-Gras L, Kottawatta SA, Somarathne S, Gamage C and Wagenaar JA (2018). Weather correlates of *Campylobacter* prevalence in broilers at slaughter under tropical conditions in Sri Lanka. *Epidemiol Infect* 146:972-9.

Karakuş S (2011): Kars yöresindeki sığır, koyun ve insanlardan termofilik *Campylobacter*lerin izolasyonu, identifikasyonu ve moleküler tiplendirilmesi. Kafkas Üniversitesi, Sağlık bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Kars.

Kashoma IP, Kumar A, Sanad YM, Cebreyes W, Kazwala RR, Garabed R. and Gireesh R. (2004). Phenotypic and genotypic diversity of thermophilic *Campylobacter* spp. in commercial Turkey flocks: A longitudinal study. *Foodborne Path Dis*;11:850–860.

Kayman T, Abay S ve Hızlısoy H (2013). *Campylobacter* Türlerinin Fenotipik Yöntemler ve Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul*; 47(2): 230-239.

Kazwala RR and Collins JD (1989): *Campylobacter jejuni* infection in commercial poultry meat production: factors responsible for establishment and spread. *World. Assoc. Vet. Food. Hyg. Xth Int. Symp. Stockholm, 2-7 July, Stockholm.*

Kendall ME, Crim S, Fullerton K, et al. (2012). Travel-associated enteric infections diagnosed after return to the United States, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 2004-2009. *Clin Infect Dis.*; 54(Suppl 5):S480-7.

Ketley JM (1997). Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol.*143:5-21.

Ketley MJ and Konkel ME (2005). *Campylobacter Molecular and Cellular Biology*. 1th ed Norfolk: Horizon Bioscience.

Khan I, Gannon V, Jokinen C, Kent R, Koning W, Lapen D, Medeiros D, Miller J, Neumann N, Phillips R, Schreier H, Topp E, van Bochove E, Wilkes G and Edge T (2014). A national investigation of the prevalence and diversity of thermophilic *Campylobacter* species in agricultural watersheds in Canada. *Water Research* 61, 243-252.

Khan IUH (2009). A methods comparison for the isolation and detection of thermophilic *Campylobacter* in agricultural watersheds. *J Microbiol Methods*; 79: 307-313.

Khoshbakht R, Tabatabaei M, Hosseinzadeh S, Shekarforoush SS and Aski HS (2013). Distribution of nine virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from broiler feces in Shiraz, Southern Iran. *Foodborne Pathog Dis*; 10(9): 764-770.

Kirkpatrick B and Tribble D (2011). Update on human *Campylobacter jejuni* infections. *Current Opinion in Gastroenterology* 27, 1-7.

Knudsen KN, Bang DD, Andresen LO and Madsen M (2006). *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chickens after oral challenge. *Avian Dis* 50:10-14.

Koca Ç (2015): Dondurulmuş piliç ve hindi parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, İstanbul.

Kolinska R, Drevinek M, Jakubu H and Zemlickova (2008). Species Identification of *Campylobacter jejuni* ssp. *Jejuni* and *C. coli* by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry and PCR\**Folia Microbiol.* 53 (5), 403-409.

Koluman A (2010). Piliç kümesleri ve kesimhanelerinde *Campylobacter jejuni* kontaminasyonunun belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*; 67 (2): 57-64

Komba EV, Mdegela RH, Msoffe PL, Nielsen LN and Ingmer H (2015). Prevalence, antimicrobial resistance and risk factors for thermophilic *Campylobacter* infections in symptomatic and asymptomatic humans in Tanzania. *Zoonoses and Public Health* 62: 557-568.

Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM and Procop GW (2006). Schreckenberger P. C. ve Woods G. L. *Campylobacter*. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott Williams & Wilkins, Sixth Edition, p: 393-403.

Konkel ME, Kim BJ, Klena JD, Young CR and Ziprin R (1998). Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun.*; 66(8):3666-72.

Konkel ME, Klena JD, Rivera-Amill V, Monteville MR, Biswas D, Raphael B, et al. (2004). Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus. *J Bacteriol.*;186(11):3296–303.

Köksoy AG (2001). Denizli yöresinde tüketime sunulan piliç etlerinde ve iç organlarında *Campylobacter* türlerinin varlığı. (Yüksek Lisans Tezi) Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Kuruncic M, Botteldoorn N, Herman L and Smole M (2007). Mechanisms of erythromycin resistance of *Campylobacter* spp. isolated from food, animals and humans. *Int. J. Food Microbiol.*, 120(1-2): 186–190.

Kuschner RA, Trofa AF, Thomas RJ, Hoge CW, Pitarangsi C, Amato S, et al. (1995). Use of azithromycin for the treatment of *Campylobacter* enteritis in travelers to Thailand, an area where ciprofloxacin resistance is prevalent. *Clin. Infect. Dis.* 21, 536–541.

Kwan P, Xavier C, Santovenia M, Pruckler J, Stroika S, Joyce K, Gardner T, Fields P, McLaughlin J, Tauxe R and Fitzgerald C (2014). Multilocus sequence typing confirms wild birds as the source of a *Campylobacter* outbreak associated with the consumption of raw peas. *Applied and Environmental Microbiology* 80, 4540-4546.

Kwon Y, Oh J, Jeong O, Moon O, Kang M, Jung B, An B, Youn S, Kim H, Jang I and Lee H (2017). Prevalence of *Campylobacter* species in wild birds of South Korea. *Avian Pathology* 46, 474-480.

Lachance N, Gaudreau C, Lamothe F, Larivie`re LA. (1991). Role of the beta-lactamase of *Campylobacter jejuni* in resistance to beta-lactam agents. *Antimicrob Agents Chemother* 35:813–818.

Ladely SR, Harrison MA, Fedorka-Cray PJ, Berrang ME, Englen MD and Meinersmann RJ (2007). Development of macrolide-resistant *Campylobacter* broilers administered subtherapeutic or therapeutic concentrations of tylosin. *J Food Prot.*;70(8):1945-51.

Lam KM, DaMassa AJ, Morishita TY, Shivaprasad HL and Bickford AA (1992). Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* for turkeys and chickens. *Avian Dis* 36:359–363.

Lambert T, Gerbaud G, Trieu-Cuot P and Courvalin P (1985). Structural relationship between the genes encoding 3'-aminoglycoside phosphotransferases in *Campylobacter* and in Gram-positive cocci. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1985 136B:135–150.

Lawrence PK, Kittichotirat W, McDermott JE and Bumgarner RE (2010). A three-way comparative genomic analysis of *Mannheimia haemolytica* isolates. *BMC Genomics* 11:535.

Lawson A.J. (2011). *Campylobacteriosis*. In: Palmer SR, Soulsby Lord, Torgerson PR, Brown DWG, eds. *Oxford Textbook of Zoonoses*, 2nd edition. New York, USA: Oxford University Press, Inc.; s. 136–145.



Lawton SJ, Weis AM, Byrne BA, Fritz H, Taff CC, Townsend AK, Weimer BC, Met A, Wheeler S and Boyce WM (2018). Comparative analysis of *Campylobacter* isolates from wild birds and chickens using MALDI-TOF MS, biochemical testing, and DNA sequencing *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. Vol. 30(3) 354–361.

Leclercq R (2002). Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 34: 482–492

Lee A, Smith S and Coloe P (2000). Detection of a novel *Campylobacter* cytotoxin. *J. Appl. Microbiol.* 89(4):719-725.

Lee G, Pan W, Yori PP, Olortegui MP, Tilley D, Gregory M, Oberhelman R, Burga R, Chavez CB and Kosek M (2013). Symptomatic and asymptomatic *Campylobacter* infections associated with reduced growth in Peruvian children *PLoS Neglected Trop. Dis.*,7 p. 2036.

Leflon-Guibout V and Munier AL (2016). *Campylobacter* infections: Epidemiology, virulence factors, antibiotic resistance. *J Antiinfect*;18(4):160—8.

Levin RE (2007). *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food Biotechnol.* 21,271-347.

Li W, Atkinson GC, Thakor NS, Allas U, Lu CC, Chan KY, Tenson T, Schulten K, Wilson KS, Haurlyuk V and Frank J (2013). Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O). *Nat Commun* 4:1477.

Lior H (1984). New, extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis*. *J Clin Microbiol*; 20:636-40.

Lior H, Woodward D, Edgar J, Laroche L and Gill P (1982). Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *Journal of Clinical Microbiology* 15, 761-768.

Liu BY, Wang ZY, Yang HM, Wang JM, Xu D, Zhang R and Wang Q (2011). Influence of rearing system on growth performance, carcass traits, and meat quality of Yangzhou. *Poultry Science*, 90(3): 653-659.

Loeffelholz M and Deng H (2006). PCR and Its variations, In: Tang YW, Stratton CW (eds), *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. USA, Springer: p 166-183.

Logan J, Burnens A, Linton D, Lawson A and Stanley J (2000). *Campylobacter lanienae* sp. nov., a new species isolated from workers in an abattoir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50, 865-872.

Lorenz TC (2012). Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *J Vis Exp.* 22;(63):e3998. doi: 10.3791/3998

Louis VR, Gillespie IA, O'brien SJ, Russek-Cohen E, Pearson AD and Colwelli RR (2005). Temperature-Driven *Campylobacter* seasonality in England and Wales. *J. Appl. Microbiol.* 71(1):85-92.

Louwen R, Heikema A, van Belkum A, Ott A, Gilbert M, Ang W, et al.(2008). The sialylated lipooligosaccharide outer core in *Campylobacter jejuni* is an important determinant for epithelial cell invasion. *Infect Immun.*;76(10):4431–8.

Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue CM and Zhang Q (2009). Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol* 4:189–200.

Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO and Zhang Q (2003). In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47: 390–394.

Mamur J (1961): A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J Mol Bio*, 3, 208-218.

Manel G (2018). Prevalence and Antibiotic Resistance Patterns of *Campylobacter* spp. Isolated from Broiler Chickens in the North of Tunisia. *Biomed Res Int* 2018:7943786.

Mansfield LS and Abner SR (2000). Molecular mechanisms governing *Campylobacter* pathogenicity. In: *Microbial foodborne diseases* Eds. Jeffrey, W.C., Lins, J.E., Bhatnagar, D. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc. 191–243.

Marotta F, Janowicz A, Marcantonio LD, Ercole C, Donato GD, Garofolo G and Giannatale ED (2020). Molecular Characterization and Antimicrobial Susceptibility of *C. jejuni* Isolates from Italian Wild Bird Populations. *Pathogens*, 9, 304; doi:10.3390/pathogens9040304

Marroki A and Bousmaha-Marroki L (2009). *Campylobacter* in Poultry: Species Emergence, Pathogenesis and Antibiotic-Resistance Prevalence. *Appro Poult Dairy & Vet Sci* . 5(5). APDV.000623. DOI: 10.31031/APDV.2019.05.000623

Martin-Gutierrez G, Rodriguez-Martinez JM, Pascual A, RodriguezBeltran J and Blazquez J (2017). Plasmidic *qnr* genes confer clinical resistance to ciprofloxacin under urinary tract physiological conditions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61: e02615–16.

Martiny D, Dediste A, Debruyne L et al. (2010). Accuracy of the API campy system, the vitek 2 *neisseria-haemophilus* (NH) card and the matrixassisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification of *Campylobacter* and related organisms. *Clin Microbiol Infect*. doi: 10.1111/j.1469- 0691.2010.03328.x [Epub ahead of print].

Mattheus W, Botteldoorn N, Heylen K, Pochet B and Dierick K (2012). Trend analysis of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from belgian pork and poultry meat products using surveillance data of 2004-2009. *Foodborn Pathog Dis* 9:465- 72.

Matuschek E, Brown DF and Kahlmeter G (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories, *Clin Microbiol Infect* ;20(4):O255-66.

McEwen SA and Fedorka-Cray PJ (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin Infect Dis* 34(Suppl 3): S93–S106.

McFadyean J and Stockman S (1913). Report of the departmental committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into epizootic abortion. London:

- Mcsweegan E and Walker RI (1986). Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. *Infect. Immun.* 53:141-148.
- Meinersmann RJ, Rigsby WE, Stern NJ, Kelley LC, Hill JE and Doyle MP (1991). Comparative study of colonizing and noncolonizing *Campylobacter jejuni*. *Am J Vet Res* 52:1518–1522.
- Meldrum R, Griffiths J, Smith R and Evans M (2005). The seasonality of human *Campylobacter* infection and *Campylobacter* isolates from fresh, retail chicken in Wales. *Epidemiology and Infection* 133, 49-52.
- Melo RT, Grazziotin AL, Valadares Júnior EC, Prado RR, Mendonça EP, Monteiro GP, Peres PABM and Rossi DA (2019). Evolution of *Campylobacter jejuni* of poultry origin in Brazil. *Food Microbiol*;82:489-496.
- Meng CY, Smith BL, Bodhidatta L, Richard SA, Vansith K and Thy B, et al. (2011). Etiology of diarrhea in young children and patterns of antibiotic resistance in Cambodia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 30, 331–335. doi: 10.1097/INF.0b013e3181fb6f82
- Miller G, Dunn G, Smith-Palmer A, Ogden I and Strachan N (2004). Human campylobacteriosis in Scotland: seasonality, regional trends and bursts of infection. *Epidemiology and Infection* 132, 585-593.
- Miller WG, Emma Y, Chapman MH and Bono JL (2017). Comparative Genomics of All Three *Campylobacter sputorum* Biovars and a Novel Cattle-Associated *C. sputorum* Clade. *Genome Biol Evol.*;9(6):1513-1518.
- Miller WG, On SLW, Wang G, Fontanoz S, Lastovica AJ and Mandrell RE (2005). Extended multilocus sequence typing system for *Campylobacter coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. helveticus*. *J. Clin. Microbiol.*43:2315–2329.
- Mills SD, Bradbury WC and Penner JL (1985): Basis for Serological Heterogeneity of Thermostable Antigens of *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.*50(1): 284-291.
- Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y and Tulkens PM (1999). Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43: 727–737.
- Mishu B and Blaser MJ (1993). Role of infection due to *Campylobacter jejuni* in the initiation of Guillain-Barre syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, vol. 17, no. 1, pp. 104–108.
- Moore JE, Crowe M, Heaney N and Crothers E (2001). Antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from human faeces (1980-2000) and foods (1997-2000) in Northern Ireland: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48, 455-457.
- Moore J, Garcia M and Madden R (2002). Subspecies characterization of porcine *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by multilocus enzyme electrophoresis typing. *Veterinary Research Communications* 26, 1-9.
- Moore JE (2001). Bacterial dormancy in *Campylobacter*: Abstract theory or cause for concern. *Int J Food Sci Technol.* 36:593-600.

Moore JE and Madden RH (2000). The effect of thermal stress on *Campylobacter coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 892-899.

Moore JE, Barton MD, Blair IS, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Kempf I, Lastowica AJ, Lowery CJ, Matsuda M, McDowell DA, McMahon A, Millar BC, Rao JR, Rooney PJ, Seal BS, Snelling WJ and Tolba O (2006). The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes Infect*, 8: 1955-1966.

Moore JE, Corcoran D, Dooley SG, Fanning S, Lucey B and Matsuda M (2005). *Campylobacter*. *Vet. Res.* 36(3):351-382.

Moore RW (1958). Studies of an agent causing hepatitis in chickens. *Avian Dis.* 2, 39

Moriarty EM, McEwan M, Mackenzie N, Karki L, Sinton W and Wood DR (2011): Incidence and prevalence of microbial indicators and pathogens in ovine faeces in New Zealand. *N. Z. J. Ag. Res.* 54, 71–81.

Mughini Gras L, Smid JH, Wagenaar JA, Koene MG, Havelaar AH, Friesema IH et al. (2013). Increased risk for *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. *Epidemiol Infect*;141(12):2526-35.

Murphy C, Carroll C and Jordan KN (2006). Environmental survival mechanism of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. *J. Appl. Microbiol.* 100:623-632.

Murphy C, Carroll C and Jordan KN (2003). Identification of a novel stress resistance mechanism in *Campylobacter jejuni*. *Journal of Applied Microbiology*, 95, p: 704-708.

Murray R, Rosenthal S and Pfaller A (2010). *Kampilobakterler ve Helikobakterler* (Çev: Başustaoğlu AC) s.325-328. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 6. Baskı, Atlas kitapçılık, Ankara.

Musher D and Musher B (2004). Contagious acute gastrointestinal infections. *The New England Journal of Medicine* 351, 2417-2427.

Nachamkin I, Panaro NJ, Li M, Ung H, Yuen P, Kricka LJ and Wilding P (2010): Agilent 2100 Bioanalyzer for Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the *Campylobacter jejuni* Flagellin Gene. *J. Clin. Microbiol.* 39(2): 754-757.

Nachamkin I (2007). *Campylobacter jejuni*. In: *Food Microbiology. Fundamentals And Frontiers*, 3rd Ed. (Eds.). Doyle, M. P. ve Beuchat, L. R. Asm Press, Washington D.C. 237-248.

Nachamkin I, Murray PR, Baron E J and Pfaller MA (1999). *Campylobacter and Arcobacter*. *Manual of Clinical microbiology*. 3.th ed:716-722.

Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ, editors. (2008). *Campylobacter*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 716 p.

Nakari UM, Puhakka A and Sitonen A (2008). Correct identification and discrimination between *Campylobacter jejuni* and *C. coli* by a standardized hippurate test and species-specific polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 27(7):513-8.

Nichols G, Richardson FJ, Sheppard SK, Lane C and Sarran C (2012). *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. *BMJ Open*. ; 2(4): e001179.

Nord C and Edlund C (1991). Ecological effects of antimicrobial agents on the human intestinal microflora. *Microb. Ecol. Health Dis.* 4, 193–207.

Norris JR and Robbins DW (1971). *Methods in Microbiology*, volume 6A; 39-40.

Nowaczek A, Urban Chmiel R, Dec M, Puchalski A, Stępień Pyśniak D, Marek A and Pyzik E (2019). *Campylobacter* spp. and bacteriophages from broiler chickens: Characterization of antibiotic susceptibility profiles and lytic bacteriophages. *MicrobiologyOpen*.;8:e784.

Nylen G, Dunstan F and Palmer S (2002). The seasonal distribution of campylobacter infection in nine European countries and New Zealand. *Epidemiol Infect* 128:383-90. *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. *BMJ Open* 2012;2:e001179. doi:10.1136/bmjopen-2012-001179.

Obeng AS, Rickard H, Sexton M, Pang Y, Peng H and Barton M (2012). Antimicrobial susceptibilities and resistance genes in *Campylobacter* strains isolated from poultry and pigs in Australia. *Journal of Applied Microbiology* 113, 294—307.

Olah PA, Doetkott C, Fakhr MK, Logue CM. (2006). Prevalence of the *Campylobacter* multi-drug efflux pump (CmeABC) in *Campylobacter* spp. Isolated from freshly processed turkeys. *Food Microbiol* 23:453–460.

Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. (2009). Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog Dis*; 6(7):793-806.

Olson C, Ethelberg S, van Pelt W and Tauxe R (2008). Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in industrialized nations. In I. Nachamkin, C. Szymanski & M. Blaser (Eds.), *Campylobacter* (Third ed., pp. 163-189). Washington, DC: ASM Press.

On S, McCarthy N, Miller W and Gilpin B (2008). Molecular epidemiology of *Campylobacter* species. In I. Nachamkin, C. Szymanski & M. Blaser (Eds.), *Campylobacter* (Third ed., pp. 191-212). Washington, DC: ASM Press.

On SLW (1996). Identification methods for *Campylobacters*, *Helicobacters* and related organisms. *J. Clin. Microbiol.*, 9, 405-422.

Oosterom J, Notermans S, Karman H and Engels G (1983). Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *Journal of Food Protection* 46, 339-344.

Osbjer K, Tano E, Chhayheng L, Mac-Kwashie AO, Fernstrom LL, Ellstrom P, Sokerya S, Sokheng C, Mom V, Chheng K, San S, Davun H, Boqvist S, Rautelin H and Magnusson U (2016). Detection of *Campylobacter* in human and animal field samples in Cambodia. *APMIS*; 124: 508–515.

Öngen B, Nazik H ve Kaya I (2007). Rutin dışkı kültürlerinde üretilen *Campylobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları: Beş yıllık sonuçların değerlendirilmesi. *ANKEM Dergi* 21, 37-41.

Özkan Ö (2012) Tavuk orjinli termofilik Kampilobakter türlerinin biyofilm özellikleri ve antibiyotik duyarlılıkları.(Yüksek Lisans Tezi) Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü .

Öztürk E, Kaş E, Alp E ve Acar N (1999).Campylobacter izolasyonunda iki Seçici Besiyerinin Karşılaştırılması. Şeh Tıp Bülteni.

Pamuk S (2006). Afyon’da paketlenmeden satılan piliç karkaslarında termofilik Campylobacter türlerinin saptanması ve C. jejuni izolatlarının PCR ile doğrulanması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Pandey P, Bodhidatta L, Lewis M, Murphy H, Shlim DR, Cave W, et al. (2010). Travelers’ diarrhea in Nepal: an update on the pathogens and antibiotic resistance. J. Travel Med. 18, 102–108. doi: 10.1111/j.1708-8305.2010.00475.x

Park SF (2002). The physiology of Campylobacter species and its relevance to their role as foodborne pathogens. International Journal of Food Microbiology, 74, 177-188.

Parkhill J, Wren BW, Mungall K, Ketley JM, Churcher C, Basham D, Chilligworth T et al. (2000). The genome sequence of the food-borne pathogen Campylobacter jejuni reveals hypervariable sequences. Nature, 403, 665-668.

Payot S, Bolla JM, Corcoran D, Fanning S, Megraud F and Zhang Q (2006). Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in Campylobacter spp. Microbes and infection/Institut Pasteur 8: 1967–1971.

Pei Z, Burucoa C, Grignon B et al. (1998). Mutation in the pebA locus of Campylobacter jejuni reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. Infect Immun; 66: 938-943

Penner JL and Hennessy JN (1980). Passive hemagglutination technique for serotyping Campylobacter fetus subsp. jejuni on the basis of soluble heat-stable antigens. J Clin Microbiol. Dec;12(6):732-7.

Pérez-Cataluña A, Salas-Massó N and Figueras M J (2018). Arcobacter canalis sp. nov., isolated from a water canal contaminated with urban sewage. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 68, 1258–1264.

Piddock LJ, Griggs D, Johnson MM, Ricci V, Elviss NC, Willaims LK, Jorgensen F, Chisholm SA, Lawson AJ, Swift C, Humphrey TJ and Owen RJ (2008). Persistence of Campylobacter species, strain types, antibiotic resistance in poultry flocks treated with chlortetracycline. J Antimicrob Chemoter, 62: 303-315.

Pointon A, Sexton M, Dowsett P, Saputra T, Kiermeier A, Lorimer M, Holds G, Arnold G, Davos D, Combs B, Fabiansson S, Raven G, McKenzie H, Chapman A and Sumner J (2008). A baseline survey of the microbiological quality of chicken portions and carcasses at retail in two Australian states (2005 to 2006). Journal of Food Protection 71, 1123-1134.

Pollett S, Rocha C, Zerpa R, Patiño L, Valencia A, Camiña M, Guevara J, Lopez M, Chuquiray N, Salazar-Lindo E, Calampa C, Casapia M, Meza R, Bernal M, Tilley D, Gregory M, Maves R, Hall E, Jones F, Arriola CS, Rosenbaum M, Perez J and Kasper M, (2012). Campylobacter antimicrobial resistance in Peru: a ten-year observational study. BMC Infect. Dis. 16 (12) 193.

Poly F and Guerr P (2008). Pathogenesis of Campylobacter. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24: 27-31.

Poly F, Threadgill D and Stintzi A (2005) Genomic diversity in Campylobacter jejuni: identification of C. jejuni81-176-specific genes. *J Clin Microbiol* 43: 2330–2338.

Pope J, Krizova A, Garg A, Thiessen-Philbrook H and Ouimet J (2007). Campylobacter Reactive Arthritis: a systematic review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 37, 48-55.

Powell LF, Lawes JR, Clifton-Hadley FA, Rodgers J, Harris K, Evans SJ and Vidal A (2012). The prevalence of Campylobacter spp. in broiler flocks and on broiler carcasses, and the risks associated with highly contaminated carcasses. *Epidemiol. Infect.* 140, 2233–2246.

Pratt A and Korolik V (2005) Tetracycline resistance of Australian Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolates. *J Antimicrob Chemother* 55, 452–460.

Pratt Rippin K and Pezzlo M (1992). Identification of commonly isolated aerobic grampositive bacteria. Rapid hippurate hydrolysis test. In: Isenberg HD (ed. in chief). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. ASM Press, Washington D.C., p.1.20.21-22.

Preston A, Mandrell RE, Gibson BW and Apicella MA (1996). The Lipooligosaccharides of Pathogenic Gram-Negative Bacteria. *Crit Rev Microbiol.*;22(3):139–80.

Proietta PC, Guelfia G, Belluccia S, De Lucab S, Di Gregorio S, Pieramatia C and Franciosinia MP (2020). Beta-lactam resistance in Campylobacter coli and Campylobacter jejuni chicken isolates and the association between blaOXA-61 gene expression and the action of  $\beta$ -lactamase inhibitors. *Veterinary microbiology* 241, 108553.

Qi C, Stratton CW and Zheng X (2006). Phenotypic Testing of Bacterial Antimicrobial Susceptibility, In: Tang YW, Stratton CW (eds), *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. USA, Springer: 63-83

Qin S, Wang Y, Zhang Q, et al. (2012). Identification of a novel genomic island conferring resistance to multiple aminoglycoside antibiotics in Campylobacter coli. *Antimicrob Agents Chemother*;56:5332–9.

Qin S, Wang Y, Zhang Q, Zhang M, Deng F, Shen Z, Wu C, Wang S, Zhang J and Shen J (2014). Report of ribosomal RNA methylase gene erm(B) in multidrug-resistant Campylobacter coli. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69: 964–968.

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ and Leonard FC (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*, Blackwell Science, USA: 168-172

Rahmatallah N, El Rhaffouli H, Lahlou I, Sekhsokh Y, Fassi Fihri O and El Houadfi M (2018). Consumption of antibacterial molecules in broiler production in Morocco. *Vet Med Sci* 4:80-90.

Ramirez MS and Tolmasky ME (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat* 13:151–171.

Rao M, Naficy A, Savarino S, Abu-Elyazeed R, Wierzba T, Peruski L, AbdelMessih I, Frenck R and Clemens J (2001). Pathogenicity and convalescent excretion of *Campylobacter* in rural Egyptian children. *American Journal of Epidemiology* 154, 166-173

Ravel A, Nesbitt A, Marshall B, Sittler N and Pollari F (2011). Description and burden of travel-related cases caused by enteropathogens reported in a Canadian community. *J Travel Med* 18:8 –19.

Ribeiro C, Thomas M, Kembrey D, Magee J and North Z (1996). Resistotyping of campylobacters: fulfilling a need. *Epidemiology and Infection* 116, 169-175.

Ricotta EE, Palmer A, Wymore K, Clogher P, Oosmanally N, Robinson T, Lathrop S, Karr J, Hatch J, Dunn J, Ryan P and Blythe D (2014). Epidemiology and antimicrobial resistance of international travel-associated *Campylobacter* infections in the United States, 2005–2011. *Am J Public Health* 104:e108 – e114.

Rober IS (1996). The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu Rev Microbiol.*;50:285–315.

Roberts MC (2005). Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 245:195–203.

Robinn DA (1981): Infective Dose of *Campylobacter jejuni* in Milk. *Br. Med. J Clin. Res. Ed.* 282: 1584.

Rollins D M and Colwell RR (1986). Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. *Applied and Environmental Microbiology* 52(3):531–538.

Rossi M, Hänninen M, Revez J, Hannula M and Zanoni R (2008). Occurrence and species level diagnostics of *Campylobacter* spp., enteric *Helicobacter* spp. and *Anaerobiospirillum* spp. in healthy and diarrheic dogs and cats. *Veterinary Microbiology* 129, 304-314.

Ruiz-aacios GM, Escamilla E and Torres N (1981). Experimental *Campylobacter* diarrhea in chickens. *Infect Immun* 34:250–255

Rutledge MD, Siletzky R, Gu W, Degerenes LA, Moorman CE, DePerno CS and Kathariou S (2013). Characterization of *Campylobacter* from resident Canada geese in an urban environment. *J. Wildl. Dis.* 49, 1–9.

Sahin O, Luo N, Huang S and Zhang Q (2003b). Effect of *Campylobacter*-specific maternal antibodies on *Campylobacter jejuni* colonization in young chickens. *Appl Environ Microbiol* 69:5372–5379.

Sahin O, Morishita T and Zhang Q (2003a). *Campylobacter* colonization in poultry: sources of infection and modes of transmission. *Anim Health Res Rev* 3:95–105.

Sails AD, Bolton FJ, Fox AJ, Wareing DR and Greenway DL (2002). Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in environmental waters by PCR Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1319-1324.



Sanders JW, Frenck RW, Putnam SD, Riddle MS, Johnston J R, Ulukan S, et al. (2007). Azithromycin and loperamide are comparable to levofloxacin and loperamide for the treatment of traveler's diarrhea in United States military personnel in Turkey. *Clin. Infect. Dis.* 45, 294–301. doi: 10.1086/519264.

Santos IC, Hildenbrand ZL and Schug KA (2016). Applications of MALDI-TOF MS in environmental microbiology *Analyst.*, 141, 2827-2837.

Sanyal SC, Islam KM, Neogy PK, Islam M, Speelman P and Huq MI (1984). *Campylobacter jejuni* diarrhea model in infant chickens. *Infect Immun* 43:931–936.

Sarıca M (2018). Yerli Kazlarımızda Seleksiyonla Verim Artışı Sağlanabilir mi? Bir Uygulama Projesi. Türkiye Kaz Yetiştiriciliği Çalıştayı Sonuç Raporu, Yozgat.

Saunders S, Smith K, Schott R, Dobbins G and Scheftel J (2017). Outbreak of campylobacteriosis associated with raccoon contact at a wildlife rehabilitation centre, Minnesota, 2013. *Zoonoses and Public Health* 64, 222-227.

Savaşçı M (2005). Piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Scerbova J and Laukova A (2016). Sensitivity to Enterocins of Thermophilic *Campylobacter* spp. from Different Poultry Species. *Food Borne Pathogens and Disease*. Volume XX, Number XX. Mary Ann Liebert, Inc.

Schmidt OR, Pohl S, Burghard S and Weig M (2005). Identification and characterization of a major subgroup of conjugative *Campylobacter jejuni* plasmids, *Journal of Infection*, 50, 12–21.

Schuetz AN (2014). Antimicrobial Resistance and Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. *Clinical Infectious Diseases*;59(5):698–705.

Schwarz S, Siley P, Simjee S, Woodford N, Duijkeren E, Johnson AP, Gaastra W, (2010). Editorial: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animalst. *J Antimicrob Chemother*, 65: 601- 604

Segreti J, Gootz TD, Goodman LJ, Parkhurst GW, Quinn JP, Martin BA, et al. (1992). High-level quinolone resistance in clinical isolates of *Campylobacter jejuni*. *J. Infect. Dis.* 165, 667–670. doi: 10.1093/infdis/165.4.667

Seng P, Drancourt M, Gouriet F et al. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laserdesorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*; 49: 543–551.

Sevolan MC, Winterfield RW and Goldman CO (1958). Avian infectious hepatitis; I. Clinical and pathological manifestations. *Avian Dis.* 2, 3.

Shane SM (1992): The significance of *C. jejuni* infection in Poultry: A. *Review Avian Pathol*, 21: 189-213.

Shane SM and Stern NJ (2003). *Campylobacter* Infection. In Y. M. Saif (ed.). Eleventh edition. *Diseases of Poultry*. Iowa State Press, Ames, 615–630.

Shanker S, Lee A and Sorrell TC (1988): Experimental colonization of broiler chicks with *Campylobacter jejuni*. *Epidemiol. Infect.*; 100: 27-34.

Shreeve J, Toszeghy M, Pattison M and Newell D (2000). Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multipen broiler house. *Avian Diseases* 44, 983-988.

Shulman S, Friedman H and Sims R (2007). Theodor Escherich: The first pediatric infectious diseases physician? *Clinical Infectious Diseases* 45, 1025-1029.

Silva DT, Tejada TS, Menezes DB, Dias PA and Timm CD (2016). *Campylobacter* species isolated from poultry and humans, and their analysis using PFGE in southern Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 217, 189–194

Silva J, Leite Da Fernandes M, Mena C, Gibbs P. A, Teixeira P, (2011). *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review *Front Microbiol*; 2 (200): 1-12

Silva PR, Palma JM, Souza NR, de Moura HM, Perecmanis S and Santana AP (2019). Isolation and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* found in chilled chicken carcasses in the Federal District Region and surrounding areas. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 40, n. 5, suplemento 1, p. 2247-2260.

Skirrow M (2006). John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* species. *Clinical Infectious Diseases* 43, 1213-1217.

Skirrow MB (1977). *Campylobacter* enteritis: a “new” disease. *Br Med J* 2:9 –11.

Skirrow MB (1991). Epidemiology of *Campylobacter* enteritis. *Int. J. Food. Microbiol.* 12:9-16.

Skirrow MB (1994). Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. *J Comp Pathol* 111:113–149.

Skirrow MB and Blaser MJ (2000). Clinical aspects of *Campylobacter* infection. 69.

Smibert RM (1984). Genus *Campylobacter*. In: *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. (Eds.) Krieg, N.R., Holt, J.G. Williams & Wilkins, Baltimore, London. 111–118.

Smibert RM (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Ed. USA: Springer; 1145–1165.

Smith T and Taylor M (1919). Some morphological and biological characters of the spirilla (*Vibrio fetus* sp.) associated with disease of the fetal membranes in cattle. *The Journal of Experimental Medicine* 30, 299-311.

Songer JG and Post KW (2005). Veteriner hekimlik Mikrobiyolojisi. *Campylobacter*, *Helicobacter* ve *Arcobacter* Cinsleri, Çev.Ed. Ağ. Ö., Özgür, N. Y. Nobel Tıp Kitapevleri. Sy. 223-228

Stanley K and Jones K (2003). Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *Journal of Applied Microbiology* 94, 104-113.

Stanley K, Wallace J, Currie J, Diggle P and Jones K (1998). Seasonal variation of thermophilic *Campylobacter* in lambs at slaughter. *Journal of Applied Microbiology* 84, 1111-1116.

Stephens CP, On ST and Gibson JA (1998). An outbreak of infectious hepatitis in commercially reared ostriches associated with *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *Vet Microbiol* 61:183–190.

Stern NJ, Bailey JS, Blankenship LC, Cox NA and McHan F (1988). Colonization characteristics of *Campylobacter jejuni* in chick ceca. *Avian Dis* 32:330–334.

Stirling DA, Hulton JS, Waddell L, Park SF, Stewart GS, Booth IR and Higgins CF (1989). Molecular characterization of the proU loci of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* encoding osmoregulated glycine betaine transport systems. *Molecular Microbiol*,3,1025-1038

Suzuki H and Yamamoto S (2009). *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey *J. Vet. Med. Sci.* 71(3):255-261.

Swaminathan A, Torresi J, Schlagenhauf P, Thursky K, Wilder-Smith A, Connor BA, Schwartz E, Vonsonnenberg F, Keystone J and O'Brien DP (2009). A global study of pathogens and host risk factors associated with infectious gastrointestinal disease in returned international travellers. *J Infect* 59:19–27.

Szczepanska B, Andrzejewska M, Spica D and Klawe J (2017). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas *Szczepanska et al. BMC Microbiology*,17:80.

Szymanski CM, King M, Haardt M and Armstrong GD (1995). *Campylobacter jejuni* motility and invasion of Caco-2 cells. *Infect Immun*;63(11):4295–300.

Taboada E, Clark C, Sproston E and Carrillo C (2013). Current methods for molecular typing of *Campylobacter* species. *Journal of Microbiological Methods* 95, 24-31.

Taboada E, Mutschall S, Hetman B, Boras V, Suttorp V, Hodgkinson P and Inglis G (2015). Molecular epidemiology of *C. jejuni* and *C. coli* circulating in a model ecosystem with intense agricultural activity and high rates of campylobacteriosis. Presented at the 18th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms, New Zealand. 34.

Taconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al.(2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*;18:318–27.

Tajada P, Gomez-Garcez JL, Alos JI, Balas D and Cogollos R (1996). Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 b-lactam agents and combinations with b-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 1924–1925.

Tang M, Zhou Q, Zhang X, Zhou S, Zhang J, Tang X, Lu J and Gao Y (2020). Antibiotic Resistance Profiles and Molecular Mechanisms of *Campylobacter* From Chicken and Pig in China. *Front. Microbiol.* 11:592496.

Tang Y, Fang L, Xu C and Zhang Q (2017). Antibiotic resistance trends and mechanisms in the foodborne pathogen, *Campylobacter*. Cambridge University Press. *Animal Health Research Reviews* 18(2); 87–98.

- Tang Y, Sahin O, Pavlovic N, LeJeune J, Carlson J, Wu Z, Dai L and Zhang Q (2017). Rising fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* isolated from feedlot cattle in the United States. *Sci. Rep.* 7, 494.
- Taremi M, Soltan Dalla MM, Gachkar L, Moez Ardalan S, Zolfagharian K and Zali MR (2006). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. *Int. J. Food Microbiol.* 108:401–403
- Tauxe RV (1992) : Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Infections in the United States and Other Industrialized Nations. In: *Campylobacter jejuni: Current Status and Future Trends.* I Nachamkin, MJ Blaser ve LS Tompkins (Editörler). ASM Press, Washington, D.C. Sayfa:9-16.
- Taylor N, Davies R, Ridley A, Clouting C, Wales A and Clifton-Hadley F (2008). A survey of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* and thermophilic *Campylobacter* spp. on poultry and pig farms in Great Britain. *J. Appl. Microbiol.* 105, 1421–1431.
- Tenover FC and Elvrum PM (1988). Detection of two different kanamycin resistance genes in naturally occurring isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 32:1170–1173.
- Tenson T, Lovmar M and Ehrenberg M (2003). The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *Journal of Molecular Biology* 330: 1005–1014.
- Tezcan İ, Ceyhan M, Diker S, Tuncer AM, Dağlı E and Kinik E (1984). *Campylobacter jejuni* enteriti. *Mikrobiyol Bul;*18(1): 23-8.
- Thibodeau A, Fravallo P, Laurent-Lewandowski S, et al. (2011). Presence and characterization of *Campylobacter jejuni* in organically raised chickens in Quebec. *Can J Vet Res;*75: 298–307
- Thomas C, Hill D and Mabey M (2002). Culturability, injury and morphological dynamics of thermophilic *Campylobacter* spp. within a laboratory based aquatic model system. *Journal of Applied Microbiology* 92, 433-442.
- Torralbo A, Borge C, García-Bocanegra I, Méric G, Perea A and Carbonero A (2015). Higher resistance of *Campylobacter coli* compared to *Campylobacter jejuni* at chicken slaughterhouse. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 39, 47–52.
- Tribble R (2017). Resistant pathogens as causes of traveller's diarrhea globally and impact(s) on treatment failure and recommendations. *J Travel Med;*24:S6–S12.
- Trompettea M, Le Guillouxa L, Souply L, Denis B, Tsouriaa A, Garrecc H, Quantind V, Vaucel J, Locher C, Barjonetf G, Martheletf P, Causseg X, Poissong D, et al. (2019). Increased incidence of *Campylobacter* enteritis and their quinolone resistance between 2010 and 2015: Results of a French national observatory conducted in 21 general hospitals (CHG). *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 43, 338-45.
- Vacher S, Menard A, Bernard E, Santos A and Megraud F (2005). Detection of mutations associated with macrolide resistance in thermophilic *Campylobacter* spp. by real-time PCR. *Microbial Drug Resistance* 11: 40–47.

Van Damme P and De Ley J (1991). Proposal for a new family, Campylobacteraceae. *Int. J. Systematic Bacteriol.* 41: 451-455.

Van Dyke MI, Morton VK, McLellan NL and Huck PM (2010). The occurrence of *Campylobacter* in river water and waterfowl within a watershed in Southern Ontario, Canada. *J Appl Microbiol*; 109: 1053-1066.

Viswanathan M, Pearl D, Taboada E, Parmley E, Mutschall S and Jardine C (2017). Cluster analysis of *Campylobacter jejuni* genotypes isolated from small and medium sized mammalian wildlife and bovine livestock from Ontario farms. *Zoonoses and Public Health* 64, 185-193.

Vogt NA, Pearl DA, Taboada EN, Mutschall SK, Janecko N, Smith RR, Bloomfield B and Jardine M (2018). Epidemiology of *Campylobacter*, *Salmonella* and antimicrobial resistant *Escherichia coli* in free-living Canada geese (*Branta canadensis*) from three sources in southern Ontario. *Zoonoses Public Health*.;65:873–886.

Vogt RL, Sours HE and Barrett T (1982). *Campylobacter* Enteritis Associated with Contaminated Water. *Ann. Intern. Med.* 96: 292-296.

Waldenstrom J, On SL, Ottvall R, Hasselquist D and Olsen B (2007). Species diversity of campylobacteria in a wild bird community in Sweden. *J. Appl. Microbiol.* 102:424–432.

Wang G, Clifford GC, Tracy MT, et al.; (2002). Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clinical Microbiol*; 40: 4744–4747

Wang WL, Reller L, Smallwood BB, Nancy L, Blaser W and Martin J (1983). Evaluation of Transport Media for *Campylobacter jejuni* in Human Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 18, No. 4, p. 803-807.

Wang Y, Zhang M, Deng F, Shen Z, Wu C, Zhang J, Zhang Q and Shen J (2014). Emergence of multidrug 14 antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. 325 resistant *Campylobacter* species isolates with a horizontally acquired rRNA methylase. *Antimicrob Agents Chemother* 58:5405–5412.

Wassenaar T and Newell D (2000). Genotyping of *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1-9.

Wassenaar TM (1997). Toxin production by *Campylobacter* spp. *Clin. Microbiol. Rev.* 10(3):466-476.

Wassenaar TM and Blaser MJ (1999). Pathophysiology of *Campylobacter Jejuni* infections of humans. *Microbes Infect.* 1:1023-1033.

Wassenaar TM, Zeijst VN, Ayling R and Newell DG (1993). Colonization of chicks by motility mutants of *Campylobacter Jejuni* demonstrates the impotence of flagellin A expression. *J. Gen. Microbiol.* 139:1171-1175.

Waterman SC (1982). The heat sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. *Journal of Hygiene*, 88, 529-533.

Weber R (2000). Prüfung Wechselseitiger Hemmeffekte Verschiedener Campylobacter Jejuni-Stämme Bei Der Kolonisation Des Hühndarmes. Inaugural Dissertation Zur Erlangung Des Grades Eines Doctor Medicinæ Veterinariæ Durch Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

Weis A, Storey D, Taff C, Townsend A, Huang B, Kong N, Clothier K, Spinner A, Byrne B and Weimer B (2016). Genomic comparison of Campylobacter spp. and their potential for zoonotic transmission between birds, primates, and livestock. *Applied and Environmental Microbiology* 82, 7165-7175.

Welkos SL (1984). Experimental gastroenteritis in newly-hatched chicks infected with Campylobacter jejuni. *J Med Microbiol* 18:233–248.

Whiley H, van den Akker B, Giglio S and Bentham R (2013). The role of environmental reservoirs in human campylobacteriosis. *Int J Environ Res Public Health* ;10(11):5886-907.

Who: World Health Organization, 2020.

Wieczorek K and Osek J (2013). Antimicrobial resistance mechanisms among Campylobacter. *BioMed Res Int.*;2013:340605.

Wieser A, Schneider L, Jung J and Schubert S (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol.* Feb;93(3):965-74.

Williams A and Oyarzabal O (2012). Prevalence of Campylobacter spp. in skinless, boneless retail broiler meat from 2005 through 2011 in Alabama, USA. *BMC Microbiology* 12, 1-7.

Williams A and Oyarzabal OA (2012). Prevalence of Campylobacter spp. in skinless, boneless retail broiler meat from 2005 through 2011 in Alabama, USA. *BMC Microbiology*; 12, 184: 1-7

Willis WL and Murray C (1997). Campylobacter Jejuni seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poult. Sci.* 76:314-317.

Willison H, Jacobs B and van Doorn P (2016). Guillain-Barré Syndrome. *Lancet* 388, 717-727.

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger Woods P and Curved G (2006). Gram negative bacilli and oxidase positive fermenters: Campylobacteraceae and Vibrionaceae. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiol.* 6th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 321- 361.

Wozniak-Biel A, Bugla-Płoskon´ska G, Kielsznia A, Korzekwa K, Tobiasz A, Korzeniowska-Kowal A and Wieliczko A (2018). High Prevalence of Resistance to Fluoroquinolones and Tetracycline Campylobacter Spp. Isolated from Poultry in Poland *MICROBIAL DRUG RESISTANCE* Volume 24, Number 3. Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/mdr.2016.0249.

Wysok B, Wojtacka J, Wiszniewska-Łaszcznych A and Sztejn J (2020). Antimicrobial Resistance and Virulence Properties of Campylobacter Spp. Originating from Domestic Geese in Poland. *Animals*, 10, 742.

Xiong J (2009). Survival of Animal-derived *Campylobacter* Strains in Raw and Pasteurized Milk, and the Roles of Capsule in *Campylobacter* Survival in Vitro, and in Chick Colonization. North Carolina State University, Master Thesis.

Yardımcı H, Erdeğer J, Akan M ve Yıldırım M (2002). Cıvıvlerin Deneysel *Campylobacter* İnfeksiyonunda Kolonizasyon, Translokasyon ve Antikor Yanıtı. *Turk J Vet Anim Sci.*; 26, 1367-1374

Yıldırım M, İstanbulluoğlu E ve Ayvalı B (2005). Prevalence and antibiotic susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species in broiler chickens. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 29, 655-660.

York MK (2007). *Anaerobic Bacteriology*. In: Isenberg HD, Garcia LS (eds), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. Washington DC, ASM press.

York MK, Traylor MM, Hardy J, Henry M and Isenberg HD (2004). *Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria*, *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 2nd ed. ASM Press, Washington, p: 3.17.1.1-3.17.48.3.

Young CR, Ziprin RL, Hume ME and Stanker LH (1999). Dose response and organ invasion of day-of-hatch Leghorn chicks by different isolates of *C. jejuni*. *Avian Dis* 43:763–767.

Zbrun MV, Olivero C, Romero-Scharpen A, Rossler E, Soto LP, Astesana DM, Blajman JE, Berisvil A, Signorini ML and Frizzo LS (2015). Antimicrobial resistance in thermotolerant *Campylobacter* isolated from different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *Food control* 57, 136-141.

Zhang Q, Al-Ghalith GA, Kobayashi M, Segawa T, Maeda M, Okabe S, Knights D and Ishii S (2018). High-Throughput *flaA* Short Variable Region Sequencing to Assess *Campylobacter* Diversity in Fecal Samples From Birds. *Front. Microbiol.* 9:2201.

Zhao S, Mukherjee S, Chen Y, et al.; (2015). Novel gentamicin resistance genes in *Campylobacter* isolated from humans and retail meats in the USA. *J Antimicrob Chemother*; 70:1314–21.

Zhao S, Young SR, Tong E, et al.; (2010). Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from retail meat in the United States between 2002 and 2007. *Appl Environ Microbiol*; 76(24): 7949-7956.

Zhou J, Zhang M, Yang W, Fang Y, Wang G and Hou F (2016). A seventeen-year observation of the antimicrobial susceptibility of clinical *Campylobacter jejuni* and the molecular mechanisms of erythromycin-resistant isolates in Beijing, China. *International Journal of Infectious Diseases* 42, 28–33.

Ziprin RL, Young CR, Byrd JA, et al.; (2001). Role of *Campylobacter jejuni* potential virulence genes in cecal colonization. *Avian Dis*; 45: 549–557.

EK-1: Örneklerden izole edilen termofilik *Campylobacter spp.* izolasyon- identifikasyon sonuçları ve dirençlilik aktivitelerinin fenotipik/moleküler analizi.

Sıra no	Örnek kodu	Aylar	Yaş (günlük)	Tür dağılımı	Kültürel	PZR	MALDI-TOF MS	AMP/ <i>bla<sub>oxA-61</sub></i>	TET/ <i>tetO</i>	SİP/ <i>gyrA</i>	GEN/ <i>aphA3</i>	AZM/ <i>ermB</i>
1	1	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
2	4	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
3	10	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	R/-	S/-	S/-
4	15	Ocak	90+	<i>C.coli</i>	+	+	+	R/+	S/-	S/-	S/-	S/-
5	18	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/-	R/-	S/-	S/-
6	21	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	S/-	R/+	R/+	S/-
7	26	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	R/-
8	27	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	R/+	S/-	S/-
9	31	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
10	35	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/+	R/+	R/-	S/-
11	38	Ocak	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/-	R/+	S/-	S/-
12	42	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
13	45	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	R/+	R/+	R/+	S/-	S/-
14	49	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
15	52	Şubat	90+	<i>C.coli</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
16	54	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	R/-	R/-	S/-	S/-	S/-
17	55	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/-	S/-	S/-	S/-
18	59	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
19	63	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	S/-	S/-
20	65	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	R/-
21	69	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/-	S/-	S/-
22	72	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	R/-	S/-	S/-
23	74	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
24	79	Şubat	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	R/+	R/+	R/+	S/-	S/-
25	83	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/-	S/-	S/-	S/-
26	86	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	R/-	S/-	S/-
27	87	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
28	92	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	S/-	S/-	S/-
29	93	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analiz yapılamadı	R/-	R/+	R/-	S/-	R/-
30	99	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-



31	103	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	S/-	S/-
32	107	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/+	S/-	R/+	S/-	S/-
33	108	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
34	112	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/-	S/-	S/-	S/-	S/-
35	113	Mart	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/+	S/-	S/-
36	121	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
37	122	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
38	125	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/-	S/-	S/-	S/-
39	128	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
40	132	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	R/-	S/-
41	135	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
42	136	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	R/-	S/-
43	139	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	R/-	S/-
44	141	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	R/-	S/-
45	146	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
46	147	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
47	152	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
48	153	Nisan	90+	<i>C.coli</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
49	154	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/-	S/-	S/-	S/-	S/-
50	159	Nisan	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
51	172	Mayıs	15	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
52	178	Mayıs	15	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	R/-	S/-	S/-
53	181	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	S/-	S/-	S/-
54	183	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
55	184	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/+	S/-	S/-
56	185	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	S/-	S/-	S/-
57	186	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
58	188	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
59	189	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	R/-	S/-
60	190	Mayıs	21	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
61	191	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
62	192	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
63	193	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
64	194	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	R/-

65	195	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/+	S/-
66	196	Mayıs	30	<i>C.coli</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
67	197	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/+	R/+	R/+	S/-
68	198	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
69	199	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
70	200	Mayıs	30	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/+	S/-
71	202	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
72	203	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
73	204	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
74	206	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
75	207	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/+	S/-
76	208	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
77	209	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/+	S/-
78	210	Haziran	45	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
79	212	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
80	213	Haziran	60	<i>C.coli</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	S/-	S/-
81	215	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/+	S/-
82	216	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/+	S/-	S/-	R/+	S/-
83	218	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
84	219	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
85	220	Haziran	60	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
86	225	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	R/+	S/-
87	226	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
88	230	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
89	235	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
90	238	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
91	240	Haziran	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	R/-
92	242	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
93	243	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
94	245	Temmuz	90+	<i>C.coli</i>	+	+	+	R/+	S/-	R/-	S/-	S/-
95	247	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
96	248	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
97	249	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
98	251	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-

99	252	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
100	254	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
101	255	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/+	R/+	S/-	S/-
102	257	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/+	R/+	R/-	S/-
103	258	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/+	R/+	R/+	S/-	R/-
104	260	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/+	R/+	R/+	R/-	S/-
105	261	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	S/-	R/+	S/-	S/-
106	263	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
107	264	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
108	265	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
109	266	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
110	268	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	R/-	R/-
111	269	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
112	271	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	R/-
114	272	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
115	275	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
116	276	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
117	277	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
118	279	Temmuz	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
119	283	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
120	284	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	R/+	R/+	S/-	S/-
121	286	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	S/-	R/+	S/-	S/-
122	287	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/+	S/-	S/-	S/-	S/-
123	288	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	R/-	R/+	R/+	R/+	R/-
124	291	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
125	292	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/+	S/-	R/+	S/-	R/-
126	294	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
127	295	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	R/-
128	297	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/-	S/-	S/-
129	298	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
130	299	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
131	302	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
132	303	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılamadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
133	305	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-

134	306	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/+	S/-	S/-
135	308	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	S/-	S/-	S/-
136	310	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
137	312	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	R/-	R/+	R/+	S/-	S/-
138	313	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
139	317	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	R/+	S/-	S/-	S/-
140	318	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
141	319	Ağustos	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/-	S/-	S/-
142	323	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	R/-	S/-	R/+	S/-	S/-
143	325	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/-	S/-	S/-
144	330	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	R/+	S/-	S/-
145	331	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
146	338	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
147	343	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	S/-	S/-	S/-
148	344	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
149	355	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
150	359	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/+	S/-	S/-	S/-
151	360	Eylül	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	Analizyapılmadı	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
152	366	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/-	S/-	S/-
153	371	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	R/-	S/-	S/-	S/-
154	379	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	S/-
155	395	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	R/-	S/-	S/-
156	396	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	R/-	S/-	S/-	S/-	S/-
157	400	Ekim	90+	<i>C.jejuni</i>	+	+	+	S/-	S/-	R/+	S/-	R/-

