

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HAYVAN MODELİNDE *SACCHAROMYCES*
BOULARDII'NİN *CAMPYLOBACTER JEJUNI*
ÜZERİNE ETKİSİ

Dr.Fatma Muhterem YÜCEL

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof.Dr.A.Demet KAYA

2008; Düzce

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----|
| 1 - GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2 - GENEL BİLGİLER | |
| 2.1 - <i>Campylobacter jejuni</i> | 3 |
| 2.1.1 - Genel özellikler | 3 |
| 2.1.2 - Sınıflandırma | 4 |
| 2.1.3 - Antijenik yapı, virülans ve patojenite özellikleri, dirençlilik | 5 |
| 2.1.4 - Epidemiyoloji ve patojenez | 7 |
| 2.1.5 - Yaptığı hastalıklar | 9 |
| 2.1.6 - Tanı | 13 |
| 2.1.7 - Tedavi | 22 |
| 2.1.8 - Korunma | 22 |
| 2.2 - <i>Saccharomyces boulardii</i> | 23 |
| 2.2.1 - Gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri | 24 |
| 2.2.2 - Etki mekanizması | 24 |
| 2.2.3 - <i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin mikrobiyal etkileşimleri | 28 |
| 2.2.4 - Klinik kullanımı | 32 |
| 2.2.5 - Kullanım şekli, güvenlik ve yan etkileri | 32 |
| 2.2.6 - <i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin diğer etkileri | 33 |
| 3 - MATERYAL METOD | 34 |
| 4 - BULGULAR | 40 |
| 4.1 - Mikrobiyolojik bulgular | 40 |
| 4.2 - Histopatolojik bulgular | 43 |
| 4.3 - İstatistiksel değerlendirme | 49 |
| 5 - TARTIŞMA | 53 |
| 6 - SONUÇLAR | 65 |
| 7 - ÖZET | 67 |
| 8 - İNGİLİZCE ÖZET | 69 |
| 9 - KAYNAKLAR | 71 |
| 10 - RESİMLEMELER LİSTESİ | 83 |
| 11 - ÖZGEÇMİŞ | 85 |

ÖNSÖZ

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, gerek asistanlığım ve gerekse tez çalışmam boyunca tecrübe ve bilgisi ile beni yönlendiren ve her aşamada destek olan değerli hocam, Anabilim Dalı başkanımız ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. A. Demet KAYA başta olmak üzere, eğitimime büyük katkı sağlayan kıymetli hocalarım, Doç. Dr. C. Elif ÖZTÜRK'e, Doç. Dr. İdris ŞAHİN'e ve Doç. Dr. M. Tevfik YAVUZ'a;

Birlikte uyum içerisinde çalıştığım asistan arkadaşlarım Dr. Mustafa BEHÇET ve Dr. Şahika GÖÇMEN, Dr. Emel ARSLAN ve Dr. Hilal ALBAYRAK'a, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Cemal ŞAHİN'e ve diğer laboratuvar çalışanı arkadaşlarım Ziya ERDOĞAN, Fulya ÖZARAS, Gülnihan KARADUMAN, Emine KORKMAZ, Seda KARAMAN, Mustafa AKGÜNOĞLU, Yonca ÖZTÜRK, Arif KIZILIRMAK, Uğur ÖZ ve Haydar KARADENİZ'e;

Rotasyon yaptığım Nükleer Tıp Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Semih DOĞAN ve Doç. Dr. Mustafa YILDIRIM'a;

Tez süresince yardımlarını gördüğüm Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç Dr. Ümran YILDIRIM ve Asistan Dr. Ali Can ÖNAL'a, laboratuvar çalışanlarına;

Tez çalışmam sırasında yardımlarını gördüğüm Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim üyesi Yrd. Doç Dr. Talat BAHÇEBAŞI'na;

Özverileri ve emeklerinden dolayı minnettar olduğum aileme;
Sevgi ve desteğini her zaman hissettiğim eşim Dr. İstemi YÜCEL'e;
Ve;
Biricik oğlum ORKUN KAĞAN'a;

En içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Dr. Fatma Muhterem YÜCEL

Düzce, 2008

SİMGE VE KISALTMALAR

| | |
|----------------|---|
| AAG | Otoaglutinasyon |
| AFLP | Amplifiye fragman uzunluk polimorfizmi |
| ATCC | American Type Culture Collection |
| CadF8 | Campylobacter adhesion to fibronectin |
| CDT | Sitoletal şişirici toksin |
| CWC | <i>Campylobacter</i> tüm hücre aşısı |
| EPI | Efflux pompa inhibitörleri |
| FDA | Food and Drug Administration |
| fla-DGGE | Flagellin geninin denatüran gradyen jel elektroforezi |
| fla-RFLP | Flagellin geninin restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi |
| GBS | Guillain-Barre sendromu |
| GRO α | Growth related oncogene α |
| GRO γ | Growth related oncogene γ |
| IFN- γ | Interferon- γ |
| IL | Interlökin |
| γ IP-10 | Gama interferon-inducible protein 10 |
| JlpA | Jejuni lipoprotein A |
| KW testi | Kruskal Wallis testi |
| LPS | Lipopolisakkarit |
| LT | <i>E. coli</i> 'nin ısıya duyarlı toksini |
| MCP-1 | Monosit kemoatraktan protein 1 |
| MST | Multilokus sekans tiplemesi |
| MWU testi | Mann Whitney-U testi |
| PEB1 | Periplazmik/membran-ilişkili protein |
| PBS | Fosfat buffer salin |
| PCR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| PFGE | Pulsed-field gel electrophoresis |
| PMK | Psödomembranöz enterokolit |
| PorA | Major dış membran proteini |
| RAPD | Random amplifiye polimorfik DNA tiplemesi |
| RSKK | Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonları |
| RT-PCR | Gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu |
| SDA | Sabouraud Dextroz Agar |
| s-IgA | Sekretuar-IgA |
| ST | <i>E. coli</i> 'nin ısıya dirençli toksini |
| TNF- α | Tümör nekroz faktörü - α |

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Akut gastroenteritler az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaya devam etmektedir. ¹ Dünya genelinde her yıl yaklaşık olarak 25 milyon enterik infeksiyon meydana gelmekte ve infeksiyon kökenli ölümlerde gastroenteritler, ikinci sırada yer almaktadır. Bu infeksiyonlar, özellikle yaşlılar ve beş yaşından küçük çocuklarda olmak üzere ciddi morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Her yıl Asya ve Afrika'daki gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere diyare nedeniyle yaklaşık 4–6 milyon çocuk hayatını kaybetmektedir. ²

Gelişmiş ülkelerde ve ülkemizde akut infeksiyöz diyare etkeni olarak *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) sıklıkla izole edilmektedir. ^{3,4} Kontamine hayvansal gıdalar, su ve süt ile fekal-oral yolla bulaşan etken, salgın yapma potansiyeline sahiptir. ⁵ İnfeksiyon belirtisi olarak hastalarda karın ağrısı, ateş, kas ağrısı ve kanlı/sulu diyare görülmekte ⁶, diğer gastroenteritlere benzer klinik özelliklerinden dolayı uygun tedavi ve kontrol önlemlerinin alınabilmesi ve antimikrobiyal duyarlılık paterninde meydana gelen değişikliklerin saptanabilmesi açısından laboratuvar tanısı büyük önem taşımaktadır. ⁵ İnce bağırsakların son kısmı ve kalın bağırsakta kolonize olan *C. jejuni*, histopatolojik olarak mukozal inflamasyon, nötrofil infiltrasyonu, kript apsesi ve düzensiz ülserasyonlara neden olmaktadır. ⁷ İnfeksiyon sonrası dönemde görülebilen reaktif artrit, Guillain-Barre sendromu, hemolitik üremik sendrom gibi komplikasyonlar nadiren olmasına rağmen, *Campylobacter* infeksiyonları etiyojilerinde önemli yer tutmaktadır. ⁸ Tedavide sıklıkla makrolidler ve florokinolonlar kullanılmaktadır. ⁴

Yapılan son araştırmalar, canlı mikroorganizmaların oral kullanımının intestinal infeksiyonların önlenmesi veya tedavisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu organizmalar flora ve immün sistem üzerine dolaylı bir etki ya da enterik patojenler üzerine direkt etkili olabilirler. Patojen adhezyonun önlenmesi, sekretuar IgA' nın uyarılması, toksin

ya da toksin reseptörlerinin değişimi ve besinler için yarışma gibi etki mekanizmaları ile ilgili birçok görüş ileri sürülen, antimikrobiyal etkileri bulunan mikroorganizmalar, probiyotik ya da biyoterapötik ajan terimleri ile tanımlanmaktadır⁹

İnfeksiyöz ishale yönelik yeni tedavi arayışları içerisinde, probiyotik ajanlardan özellikle, non-patojenik, non-toksik, normal şartlarda translokasyona uğramayan, mide asidinden etkilenmeyen bir maya olan *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) son yıllarda giderek ön plana çıkmaktadır.¹⁰ *S. boulardii*'nin *Candida* cinsinden mayalara¹¹, *S. aureus*¹², *S. typhimurium* ve *Shigella flexneri*'ye¹⁰ direkt antagonistik etkisinin olduğu hayvan deneyleriyle gösterilmiş, bakteriyel toksinlerin etkisini inhibe etme, intestinal disakkaridazların etkisini arttırma, infeksiyonlara karşı non-spesifik savunmayı güçlendirme benzeri etkileriyle bağırsak koruyucu özellikleri bildirilmiştir.¹⁰ Ayrıca profilaktik olarak verildiğinde *C. difficile*'nin etken olduğu antibiyotik ilişkili diyare tablosunda¹³, (*S. typhimurium*, *S. flexneri*)¹⁴ ve *V. cholerae*¹⁵ gibi etkenlere bağlı infeksiyonlarda koruyuculuk sağladığı da ortaya konulmuştur.

Bu çalışmadaki amaç, gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de infeksiyöz ishal etkenleri arasında sık görülen, *C. jejuni*'ye karşı, *S. boulardii*'nin profilaktik kullanımında ve kolonizasyon sonrası uygulamadaki etkisini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. *Campylobacter jejuni*

2.1.1. Genel özellikler

Campylobacter türleri tüm dünyada gastrointestinal sistem infeksiyonlarının önemli etkenlerindedir. Besin kaynaklı bakteriyel infeksiyonlara sıklıkla, *C. jejuni* ve *C. coli* neden olmaktadır.¹⁶ *Campylobacter* cinsi bakteriler 1.5–5 µm boyunda, 0.2-0.5 µm genişliğinde, zor ve yavaş üreyen, mikroaerofilik, kapnofilik, kılıfsız, bir polar flagellum ile hareketli, kıvrık spiral yapıda, sporsuz, Gram negatif bakterilerdir.^{17,18,19} Klinik örneklerde, dokuda virgül veya S şeklinde görülür ve “uçan bir martı”ya benzetilir. Eski kültürlerde toparlak, küçük koka benzer veya filamanlı şekillerde olabilirler. Virgül şeklindeki bakteride tek kirpik, S şeklindeki bakterinin her iki ucunda da birer kirpik vardır. Faz kontrast veya karanlık alan mikroskopunda taze preparatlarda çok hızlı, tirbüşon gibi hareketleri görülür. Metilen mavisi, kristal viyole ve karbol fuksinle iyi boyanırlar. Bu mikroorganizmalar nonfermentatif ve nonoksidatif olup, enerjilerini, aminoasitler ile dört, altı-karbonlu Krebs siklusu bileşenlerinden sağlarlar.¹⁸ Nükleik asitteki G+C (guanin+sitozin) oranı %28–38 dir.²⁰

Bu mikroorganizmalar çok geniş bir ekolojik ortama yayılmışlardır; pek çok türü sığır, domuz gibi hayvanlarda bulunur ve infertilite ile düşüğe neden olurlar.¹⁸

İlk kez 1909 yılında tanımlanan *Campylobacter* cinsi bakteriler, uzun süre *Vibrionacea* ailesinde *Vibrio* cinsi içinde incelenmiş ve ilk izolasyonda *Vibrio fetus* olarak adlandırılmıştır. 1931’de sığırlarda dizanteriye neden olduğu gösterilen bakteriye, jejunuma yerleştiği için Jones tarafından *Vibrio jejuni* adı verilmiştir.²¹ 1947 yılında infeksiyöz düşük

yapan bir kadının kan kültüründen üretilen *C. jejuni*'nin, 1957 yılında King ²² tarafından çocuk ishallerinde önemli bir etken olabileceği ileri sürülmüş ve *V. jejuni* olarak adlandırılmıştır. 1972 yılında Dekelsey ve ark. ²³, etken bakteriyi, akut gastroenteritli hastaların dışkılarından özel bir filtreleme tekniği ile izole etmiş ve *V. fetus, subsp. jejuni*; *C. jejuni* olarak tanımlamıştır. Fermentatif olan *Vibrio*'ların aksine *Campylobacter*'ler nonfermentatiflerdir. ²⁴

2.1.2. Sınıflandırma

Mikroaerofilik Gram-negatif basillerin sınıflandırması son birkaç dekatta önemli ölçüde değişmiştir. Vandamme ve ark. ²⁵, DNA-rRNA hibridizasyonu, 16s ribozomal RNA (rRNA) sekans analizi ve immünotipleme analizleri gibi moleküler teknikler kullanarak *Campylobacter* türleri ve ilgili grupların aynı filogenetik gruba ait olduğunu bulmuşlar ve "rRNA superfamily VI" olarak isimlendirmişlerdir. Bu ailede 5 cins bulunmaktadır: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella* ve *Flexipira*. Bu cinslerin ayırtıcı özellikleri Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo-1. *Arcobacter*, *Campylobacter*, *Wolinella*, *Helicobacter* ve *Flexipira* cinslerinin ayırtıcı özellikleri

| CİNS | Nitrat Redüksiyonu | %0.5'lik Glisin'de Üreme | Üre Hidrolizi | 15°C'de Üreme | 30°C'de Üreme | 42°C'de Üreme | Hücre Morfolojisi (Çomak) | Flagellar Kılıf |
|----------------------|--------------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------------------|-----------------|
| <i>Arcobacter</i> | + | NA | V | + | + | - | Eğri ve spiral | Yok |
| <i>Campylobacter</i> | + | V | - | - | + | V | Eğri ve spiral | Yok |
| <i>Wolinella</i> | + | - | - | - | - | W | Spiral | Yok |
| <i>Helicobacter</i> | V | + | V | - | V | V | Eğri ve spiral | Var |
| <i>Flexipira</i> | - | + | + | - | - | + | Düz, fusiform | Var |

[(+); %90'dan fazla suş pozitif, (-); %90'dan az suş pozitif, V; suşların %11-%89'u pozitif, W; zayıf reaksiyon]

Campylobacter cinsinde, 18 tür ve alttür yer almaktadır. *C. jejuni*, *Campylobacter* türleri arasında insanlardaki en önemli patojen olup, ishal olgularında dışkıda *Salmonella* ve *Shigella*'dan 2–7 kat daha fazla izole edilmektedir.^{18,26} *C. jejuni*'nin alt-tiplenmesinde en önemli metodlar [random amplifiye polimorfik DNA tiplemesi (RAPD), Penner ısı-stabil serotipleme, otomatize ribotipleme, flagellin geninin (flaA) restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (fla-RFLP) ve flagellin geninin denatüran gradyen jel elektroforezi (fla-DGGE)],²⁷ pulsed-field jel elektroforez (PFGE)^{27,28}, amplifiye fragman uzunluk polimorfizmi (AFLP)²⁹ ve multilokus sekans tiplemesi (MST)³⁰ dir.

2.1.3. Antijenik yapı, virulans ve patojenite özellikleri, dirençlilik

Antijenik yapı

Campylobacter türleri arasında, antijen yapısı ile ilgili en çok çalışma *C. jejuni* ile yapılmıştır. Bu türün lipopolisakkarit (LPS) yapısında, ısıya dirençli (heat-stabile) somatik O antijenlerine dayanan 90'ın üzerinde serotipi ve ayrıca ısıya duyarlı (heat-labile) kapsül ve kirpik antijenlerine dayanan 50 farklı serotipi vardır. En sık enterit yapan türler olan *C. jejuni* ve *C. coli* için iki ayrı serotiplendirme sistemi kullanılmaktadır.¹⁶ Penner yöntemi ile, pasif hemaglutinasyonla (indirekt hemaglutinasyon) ısıya dirençli somatik (O) antijenlerine göre serotiplendirme yapılmakta iken,²⁰ Lior yöntemi ile lam aglutinasyonu ile ısıya duyarlı kirpik (H) antijenleri incelenerek serotipler belirlenmektedir. Bu yöntemlerin ikisinde de 90'ın üzerinde referans serotip belirlenmiştir, insan ve insan dışı kaynaklardan izole edilen *Campylobacter* suşlarının % 90'ından fazlasını tiplendirebilmek mümkündür.¹⁶ Lior sistemi daha kolay ve daha hızlıdır. Bu sistemlerden birinde tek bir serotipe ait olan suşlar, diğer sistemde farklı serotiplere ait bulunabilmektedir. *Campylobacter*'ler için her iki sistem birlikte kullanılarak, *E. coli* ya da *Salmonella* serotiplendirmesi gibi O ve H antijenlerinin birlikte değerlendirildiği, başka bir serotiplendirme şeması geliştirilebilir. *Campylobacter*'lerde türe veya gruba özgü bir antijen yoktur. Bununla birlikte birçok *Campylobacter* serotipinde bulunan özel bir yüzey proteininin, aşı antijeni olarak kullanılması olasıdır. Ayrıca *Campylobacter* aşısı için farklı serotiplerdeki dış zar proteinleri ile antijenik yakınlığı olan bir dış zar proteininin de kullanılabileceği düşünülmektedir.²⁰ *C. fetus*'un yüzey yapısı *C. jejuni* ve *C. coli*'den oldukça farklıdır. *C. fetus*'un mikrokapsül veya S tabakası olarak tanımlanan ve hücre yüzeyini kaplayan, büyük bir protein yapısında olan bir antijeni bulunmaktadır.

Virulans ve patojenite özellikleri

C. jejuni suşlarının virulansını etkileyen sitotoksini, enterotoksini, invazivlik ve yapışma özellikleri vardır. Bu özelliklerin her biri çok iyi incelenememiştir. *C. jejuni* enterotoksini kolera enterotoksinine ve *E. coli* 'nin ısıya duyarlı (LT) toksinine yapısal ve immunolojik olarak benzemektedir. Ayrıca bazı *C. jejuni* ve *C. coli* suşları, çeşitli memeli hücrelerinde hasara yol açan sitotoksin salgılamaktadır. Kirpikler bakterinin bağırsak yüzeyindeki mukusa tutunup, bağırsaklara yerleşmesine yardım etmektedir.²⁰

C. fetus suşlarında hücre yüzeyini büyük bir protein olan antijenik bir tabaka kaplamakta, bu yapı *C. fetus* suşlarını serumun bakterisit etkisinden ve fagositozdan korumakta, komplemanın (C3b) bağlanmasını önlemekte ve opsonizasyonu bozmaktadır. Bu protein *C. jejuni* ve diğer enterit etkeni *Campylobacter* suşlarında bulunmamaktadır. *C. fetus* suşlarının bağırsaklar dışında yayılmasını sağlayan ana virulans faktörlerindedir.

Otoaglutinasyon (AAG) aktivitesi, konak hücrelerle etkileşim ve virülans göstergesidir. *C. jejuni* suşları üç AAG fenotip grubuna sahiptir ve flagellar ekspresyon ile yakından ilgilidir. AAG belirlenmesindeki en önemli faktörler, bakteriyel kültürün süresi ve hücre süspansiyonunda kullanılan sulandırıcının niteliğidir.³¹

Dirençlilik

Campylobacter türleri su, dışkı, idrar ve sütte 4°C'de haftalarca, 25°C'de ise en fazla birkaç gün, toprak, saman ve gübrede ısıya bağlı olarak 10–20 gün canlı kalabilirler. Termofiliklerdir, hücre ölümü ribozomun en fazla ısıya duyarlı kısımlarının denatürasyonu ile eşzamanlıdır.³²

Campylobacter'ler *Salmonellalar* gibi asitlere dayanıksızdır, pH:2.3'den düşük ortamlarda 5 dk'dan uzun süre yaşayamazlar. Nötral ve alkali ortamlarda, özellikle safrada, 37°C'de üç ay canlı kalabilir ve çoğalabilirler.²⁰

Campylobacter'ler doğrudan güneş ışınlarına, kuruluğa ve dondurucu soğuğa dayanıksız olup, ısıya kısmen dayanabilirler. Pastörizasyonla ve 60 °C'de 5 dk'da ölürlür.

Suların dezinfeksiyonu için kullanılan yoğunluktaki klor ve türevleri de, *Campylobacter*'lere karşı etkilidir.²⁰

*Campylobacter*ler türleri ampisilin, tetrasiklin ve kanamisine %10–15 oranında dirençlidir ve genellikle kloramfenikol, eritromisin, gentamisin ve nalidiksik asite ve furazolidon ile florokinolonlara duyarlıdırlar.²⁰

2.1.4. Epidemiyoloji ve patogenezi

Campylobacter infeksiyonları tüm dünyada yaygın olmakla birlikte, tropikal bölgelerde daha sık izlenmektedir. Yaz sonu ve sonbahar başında *C. jejuni* infeksiyonlarının insidansı artmakta ve en sık süt çocuklarında, ikinci sıklıkta ise genç erişkinlikte görülmektedir. Sebebi bilinmemekle beraber erkeklerde kadınlardan daha sıktır. Yıllık görülme insidansı 100 000'de 1000 olarak tahmin edilmektedir.¹⁶

Campylobacter türlerinin büyük çoğunluğu patojen olup, insan ve hayvanlardaki pek çok hastalıkla ilişkilidir. *Campylobacter* türleri; kümes hayvanları, yabani veya evcil sığır, domuz, koyun, keçi, köpek, kedi, kemiriciler ve çeşitli yarasaların gastrointestinal sistemlerinde bulunmaktadır.¹⁷ *C. jejuni*'nin çok çeşitli rezervuarları (vahşi kuşlar, ördek, kaz, martı, vb.) varken, *C. coli*, *C. hyointestinalis* en çok domuz; *C. upsaliensis* köpek; *C. lari* martı; *C. fetus* koyun, sığır ve domuzlardan izole edilmektedir. İnfekte hayvanların çoğu hayat boyu taşıyıcı hale gelip, infeksiyonların kaynağını oluşturmaktadırlar. İnfekte hayvan atıklarının, toprak ve su kaynaklarına bulaşması, etlerin ise kesim ve hazırlama sırasında bağırsak içeriği ile kirlenebilmesi olasıdır.

Campylobacter türleri ve özellikle gastroenteritte en sık etiyolojik ajan olarak kabul edilen *C. jejuni*'ye bağlı büyük salgınlar kontamine süt, su ve en sık olarak da az pişmiş kümes hayvanlarının (%70; tavuk) etlerinin tüketilmesi ile ilişkili olarak gelişmektedir.^{5,17,18} *Salmonella* ve *stafilokoklar* gibi besin kaynaklı gastroenterit yapan diğer ajanların aksine, *Campylobacter* türleri besinlerin içinde çoğalmamaktadır.¹⁷ Pastörize olmamış sütler, iyi pişmemiş et ve yumurtalarla çok sayıda salgın gelişmiştir.²⁶ Çiftçiler, veterinerler, mezbahada ve mandırada çalışanlar, kasaplar gibi meslek gruplarında; hayvan ve hayvan ürünleriyle doğrudan temasta olanlarda infeksiyon riski yüksektir.²⁰ Ayrıca laboratuvar kaynaklı *Campylobacter* infeksiyonları da bildirilmiştir. Zoonoz olmasına rağmen aile

bireyleri ve hastanede yatan hastalar arasında fekal-oral yolla bulaş da gösterilmiştir. Ancak *Campylobacter* infeksiyonlarının insandan insana bulaşı hastalığın geçişinde minör role sahiptir.¹⁶

Yaz aylarında ve sonbaharda daha sık görülen *Campylobacter* infeksiyonlarının dünyada yaygınlığı, %1–14 arasındadır ve gelişmiş ülkelerde *Salmonella* ve *Shigella* infeksiyonlarından daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Yaz aylarındaki infeksiyonların az pişmiş kümes ürünleri, ilk ve sonbahardaki nispeten daha az olan infeksiyonların ise pastörize edilmemiş süt ve temiz olmayan su kullanımına bağlı olduğu öne sürülmektedir.³³

Her yaşta sık görülmekle birlikte, en sık görülme yaşları 10–29 yaşdır. Gelişmekte olan ülkelerde ise çocukluk çağında, özellikle hayatın ilk beş yılında da çok sık izole edilmektedir.

20

Türkiye’de *Campylobacter* enteritlerinin sıklığının %2–15 arasında olduğu ve 0–1 yaşta daha sık görüldüğü; incelenen insan, köpek ve tavuk kaynaklı suşların çoğunun *C. jejuni* biyotip 1 ve *C. coli* biyotip 1 olduğu bildirilmektedir.³⁴

*Campylobacter*lerin hareketli oluşları, bağırsak mukozasında kolonize olmaları ve infeksiyon meydana getirmelerine katkıda bulunur. Farklı türlerin virulansı, flagellar aktiviteye ve bağırsak hücrelerine yapışma yeteneklerine bağlıdır.¹⁶ *C. jejuni* ile infeksiyon ince bağırsak ve kolonu etkileyen akut inflamatuvar enterite yol açmasına rağmen, infeksiyonun patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Mikroorganizmanın bağırsakta çoğalması, hücre hasarına ve inflamatuvar cevaba yol açmaktadır.¹⁷ *C. jejuni*’nin birçok türü, insan serumunun nonspesifik bakterisidal aktivitesine duyarlıdır ve bu nedenle *C. jejuni* bakteriyemisi nadir görülmektedir.³⁵

Ağız yolu ile *Campylobacter*’lerin alınmasından sonra infeksiyon gelişip gelişmeyeceği ve inkübasyon süresi, alınan mikroorganizma sayısına bağlı olarak bir haftadan üç haftaya kadar değişir. Ayrıca konak organizmanın duyarlılığı ve suşun virulansı da önemlidir. Genel olarak, 10^6 mikroorganizma ağız yolu ile alındığında, 2–4 günde hastalık oluşmaktadır. *Campylobacter*’lerin hastalık oluşturan dozu her zaman böyle yüksek olmayabilir. Bazen 500 mikroorganizmanın da hastalığa sebep olduğu bilinmektedir.¹⁶ *Campylobacter*’lerin mide asitine duyarlılığı nedeniyle, bol miktarda sıvı ve sütle alınan

bakteriler bağırsaklara daha kolay ulaşırlar ve safrada da üreyebilmeleri nedeniyle ince bağırsakların yukarı bölümlerine de yerleşebilirler. İnce ve kalın bağırsaklarda akut eksudatif ve hemorajik inflamasyon gelişir. Bu olaydan apendiks, mesenterik lenf bezleri ve mesane de etkilenir. Ağır olgularda sıklıkla kolon tutulumu olur ve nonspesifik kolit, ülseratif kolit veya Crohn hastalığını taklit eder. İnkübasyon süresi ortalama 1–7 gündür. Hastalık genellikle kendini-sınırlayıcıdır ve 3–7 günde iyileşme görülür. Mikroorganizma, nekahat dönemindeki hastalarda dışkıyla iki hafta ile bir ay arasında atılır.¹⁸ *Campylobacter* infeksiyonlarında, yalancı zarlı kolit de gelişebilmektedir.²⁰

Campylobacter ile infekte hastaların serumlarında spesifik antikorlar gelişir. Önce IgM ve IgA sınıfı antikorlar ortaya çıkarken, IgG titresi 2–4 haftada yükselir ve sonra hızlıca düşer.¹⁶ *Campylobacter* türleri arasındaki çapraz reaksiyon nedeniyle bir *Campylobacter* türüne karşı gelişmiş antikorlar, diğer türlerle de reaksiyon verir. Gelişmekte olan ülkelerde, endemik bölgelerde IgG tipi antikorlar, hayatın ilk yılında tepe noktasına ulaşır ve zamanla antikor titresi düşer, ancak IgA sınıfı antikor titresi ömür boyu devam eder. Tekrarlayan infeksiyonların spesifik IgA üretimi üzerine arttırıcı etkileri bulunurken; IgG sınıfı antikorlar üzerine etkileri bulunmamaktadır.

2.1.5. Yaptığı hastalıklar

Campylobacter cinsi bakteriler gastrointestinal sistem infeksiyonları ve bazen de bağırsak dışı infeksiyonlara yol açarlar. Bakteriyemi, menenjit, endokardit, septik artrit, osteomyelit, neonatal sepsis gibi bağırsak dışı hastalıkları ve özellikle kazanılmış immun yetmezlik sendromu (AIDS) ile diğer immun yetmezlikli kişilerde olmak üzere giderek daha fazla sayıda görülmektedir.^{16,17} *Campylobacter* türlerinin etken olduğu septik artrit, menenjit ve proktokolit olguları son birkaç yılda bildirilmektedir.³⁶ Tanı metodlarının gelişmesi ile birlikte, insanlarda hastalık yapan *Campylobacter*'lerin sayısında artış görülmektedir. İnsanlarda hastalık yapan *Campylobacter* türleri ve yaptıkları infeksiyonlar Tablo-2'de ve *Campylobacter* infeksiyonlarının özellikleri Tablo-3'de gösterilmiştir.

*Campylobacter*ler içinde en sık enterite yol açan tür olan *C. jejuni*, bu tablo için örnek tür olarak kabul edilir. *C. jejuni*'yi takiben sırasıyla *C. coli* ve *C. lari* başta olmak üzere, diğer türler de enteritli olgulardan izole edilmektedir.

Tablo–2. *Campylobacter* ve *Arcobacter* türleri; kaynakları ve insanlardaki hastalık spektrumu

| Organizma | Kaynak | İnsanlarda hastalığın spektrumu |
|---|--|---|
| <i>C. concisus, C. curvus, C. rectus, C. showae</i> | İnsan | Periodontal hastalık; gastroenterit (?) |
| <i>C. gracilis</i> | İnsan | Baş, boyun ve iç organlarda derin doku infeksiyonları, dişeti yarıkları |
| <i>C. coli</i> | Domuz, kümes hayvanları, koyun, boğa, kuş | Gastroenterit*; septisemi |
| <i>C. jejuni subsp. jejuni</i> | Kümes hayvanları, domuz, boğa, köpek, kedi, kuş ve diğer hayvanlar | Gastroenterit*; septisemi, menenjit, proktit |
| <i>C. jejuni subsp. doylei</i> | İnsan | Gastroenterit*, gastrit, septisemi |
| <i>C. lari</i> | Kuş, kümes hayvanları, diğer hayvanlar; nehir ve deniz suyu | Gastroenterit*, septisemi, protez infeksiyonu |
| <i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i> | Domuz, sığır, sığan, geyik | Gastroenterit |
| <i>C. upsaliensis</i> | Köpek, kedi | Gastroenterit; septisemi, apse |
| <i>C. fetus subsp. fetus</i> | Sığır, koyun | Septisemi; gastroenterit; düşük; menenjit |
| <i>C. fetus subsp. venerealis</i> | Sığır | Septisemi |
| <i>C. sputorum biovar sputorum</i> | İnsan, sığır, domuz | Akse, gastroenterit |
| <i>Arcobacter cryaerophilus</i> | Domuz, boğa ve diğer hayvanlar | Gastroenterit*; septisemi |
| <i>A. butzleri</i> | Domuz, boğa, insan, diğer hayvanlar; su | Gastroenterit*; septisemi |

(*En sık klinik durum)

Tablo-3. *Campylobacter* infeksiyonlarının özellikleri

| Özellikler | Bağırsak İnfeksiyonları | Bağırsak Dışı İnfeksiyonları |
|----------------------------|--|--|
| En sık etken | <i>C. jejuni</i> | <i>C.fetus</i> |
| Diğer etkenler | <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. fetus</i> , <i>C. upsaliensis</i> | <i>C. jejuni</i> , <i>C.coli</i> , <i>C.lari</i> , <i>C.sputorum</i> , <i>C.hyointestinalis</i> |
| Virulans faktörleri | Enterotoksin, sitotoksin | Hücre yüzeyini kaplayan, fagositozdan koruyan antijenik bir protein tabaka |
| İnkubasyon süresi | 1-7 gün (alınan doza, virulansa, konağın durumuna göre değişir) | |
| İnfeksiyon tipi | Enterit, kolit | Bakteriyemi, derin odak infeksiyonları (Endokardit, perikardit, SSS infeksiyonları, artrit, ampiyem, idrar yolu infeksiyonu, kolesistit) |
| Komplikasyon | Reaktif artrit (HLA-B27 antijeni olanlarda) Guillain Barre sendromu | Hamilelerde ölü doğum, bakteriyemide endokarditte ve perikarditte tromboflebit gelişmesi |
| Prognoz | Ortalama 1-7 günde iyileşme | İnfeksiyon tipi, konağın bağışıklık sistemi ve suşun virulansına bağlı olarak değişir |
| Laboratuvar tanı | Dışkı örneğinin direkt mikroskopisi ve mikroaerofilik ortamda, 42°C de dışkı kültürü | Kan, BOS, idrar gibi örneklerde sefalosporinsiz besiyerinde, mikroaerofilik ortamda 37°C’de kültürü |
| Tedavi | Sıvı-elektrolit açığı düzeltilmeli, gerektiğinde antibiyotik tedavisi | Uygun antibiyotik tedavisi ve drenaj gibi semptomatik tedaviler |

Campylobacter türlerinin en sık etken olduğu klinik tablo, ince bağırsak ve kolonu etkileyen akut inflamatuvar enterittir. Kuluçka süresi 1-7 gün olup, belirtiler yaklaşık bir hafta sürer; ancak daha da uzayabilir. ¹⁶ Diyarenin başlamasından 12-24 saat önce başlayan ateş, baş ağrısı, kas ağrısı ve halsizlik hastalığın ilk bulgularıdır. En sık görülen belirtiler diyare, halsizlik, ateş ve karın ağrısıdır. Hafif sıvı kaybına yol açan yumuşak diyareden, ağır sulu veya bol kanlı diyareye kadar değişen klinik durumlar gözlemlenebilir. Dışkılama sayısı

günde 10'un üzerine çıkabilmekte ve kramp şeklinde olan karın ağrısı dışkılama ile düzelebilmektedir. *Campylobacter* enteriti sıklıkla birkaç gün içinde kendiliğinden gerilemekte olup, antibiyotik tedavisi gerektirmemektedir.^{17,20} Hastalık tablosu, hastaların %10-20'sinde bir haftadan daha uzun sürebilmekte, tedavi edilmeyen olguların %5-10'unda ise tekrarlamalar görülebilmektedir.²⁰ Sigmoidoskopik incelemede yaygın kolonik inflamasyon saptanırken, erken dönemde inflamatuvar bağırsak hastalığı ile karıştırılabilmektedir.¹⁶

Bakteriyemi ve derin odak infeksiyonlarına daha sık yol açan *Campylobacter* türü *C. fetus*'dur.²⁰ *C. jejuni* enteritlerinde bakteriyemi oranı %1'den daha düşüktür ve genellikle geçici bir bakteriyemidir.

C. fetus ateş, titreme, kas ağrısı ile seyreden, tekrarlamalarla uzun süren bir bakteriyemiye yol açabilir. İnfeksiyon kaynağı gösterilememekte, organ tutulumu ile karmaşık infeksiyon şekline dönüşebilmektedir. Bazen ağır, öldürücü gidiş olasıdır. *C. jejuni* infeksiyonu sonrası nadiren Guillain-Barre sendromu, reaktif artrit, üveit, ensefalit, hemolitik-üremik sendrom, hemolitik anemi ve kardit komplikasyonları bildirilmiştir.¹⁶ Çölyak hastalığında *C. jejuni*'nin bir rolü olabileceği iddia edilmiştir.³⁷

C. jejuni infeksiyonlarının en önemli postinfeksiyöz komplikasyonu Guillain-Barre sendromu' (GBS) dur. GBS olgularının %20-40'ının nörolojik belirtiler ortaya çıkmadan 1-3 hafta önce, *C. jejuni* infeksiyonu geçirdiği ve en sık *C. jejuni* Penner serotip O:19 sonrası ortaya çıktığı bildirilmektedir. Hastalığın patogenezinde hümorale immünopatojenik mekanizmanın etkili olduğu iddia edilmektedir. Bununla birlikte *C. jejuni* infeksiyonu sonrası GBS gelişme riski oldukça düşüktür (<1 GBS olgusu/2000 -5000 *C. jejuni* infeksiyonu). *C. jejuni* infeksiyonu sonrası gelişen GBS ciddi seyirlidir ve kalıcı nörolojik hasar olasılığı yüksektir.¹⁶

Campylobacter infeksiyonlarından, özellikle, *C. jejuni* infeksiyonlarından birkaç hafta sonra HLA-B27 doku grubu antijeni taşıyan kişilerde reaktif artrit oluşabilir.^{17,20} *Campylobacter* enteritlerinden sonra nadiren hepatit, interstisyel nefrit ve hemolitik üremik sendrom²⁰, bakteriyemi, kolesistit, pankreatit, düşük ve neonatal sepsis, prostatit, idrar yolu infeksiyonu, peritonit, myokardit, menenjit, septik artrit ve apse oluşumu gibi bağırsak dışı infeksiyonlar bildirilmiştir.¹⁹

2.1.6. Tanı

Campylobacter'lerin hızlı tanısında tipik koloni morfolojisi, Gram boyama ile gösterilen Gram-negatif kıvrık çubuklar, oksidaz ve katalaz pozitifliği ve motilite göz önünde bulundurulur. ¹⁶ *Campylobacter* türlerinin laboratuvar identifikasyonu Şekil-1'de gösterilmiştir.

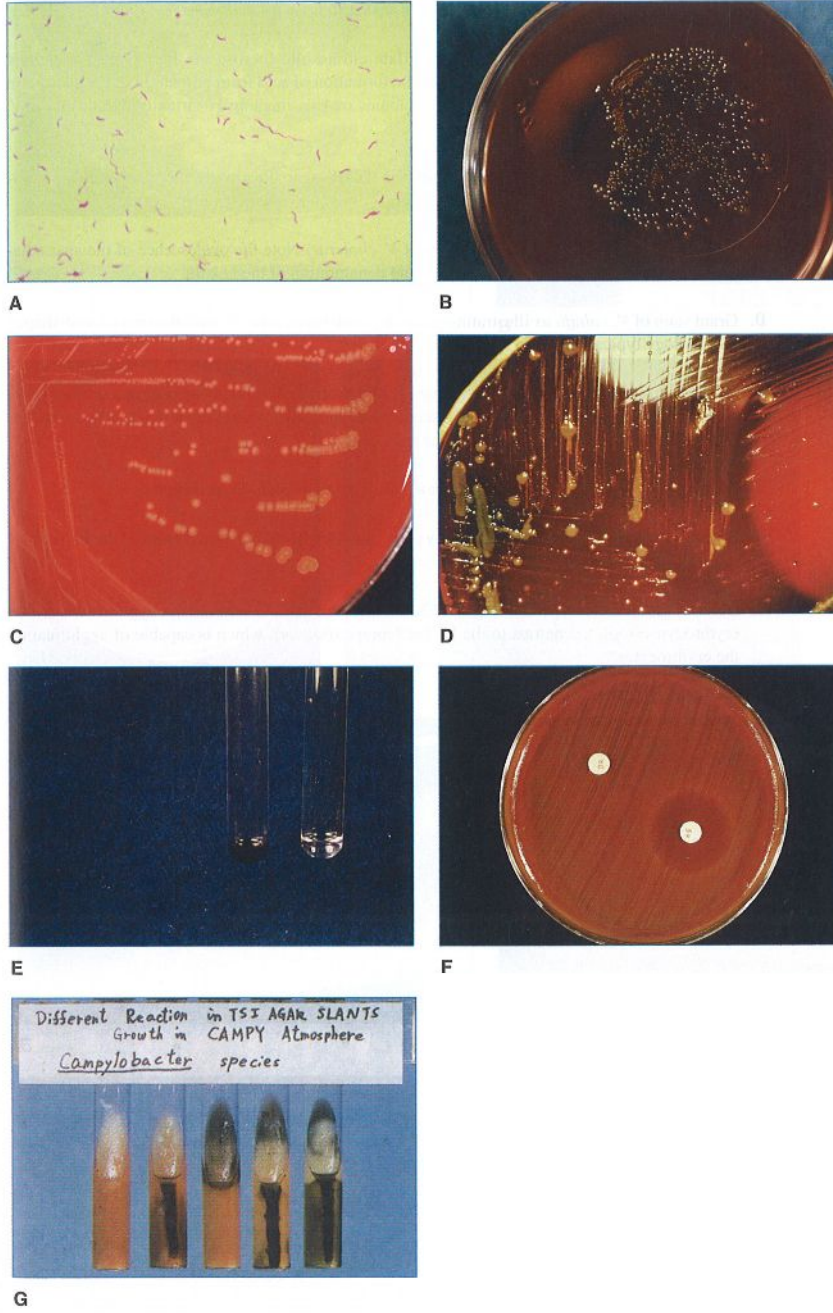
2.1.6. a. Örnek toplanması, taşıma ve inceleme:

Campylobacter infeksiyonundan şüphelenilmesi gereken hasta grupları şunlardır: Akut ateş ve diyareli hastalar, apandisit bulguları olan, inflamatuvar bağırsak hastalığı bulunan, kronik diyaresi bulunan immünyetmezlikli hastalar ve gelişmekte olan ülkelere seyahat edenlerde diyare görülenler. ¹⁶

Campylobacter izolasyonu için klinik örneklerin toplanması, taşınması ve işlenmesi için özel kurallar bulunmamaktadır. Temiz bir kaba dışkı veya rektal sürüntü örneği alınabilir. ¹⁷ *Campylobacter* infeksiyonlarının tanısı, dışkı örneğinin direkt mikroskopik incelemesinde bakterinin görülmesine; dışkı, kan ve yerleşim gösterdiği diğer sistemlere ait örneklerden (BOS, balgam, idrar gibi) kültür yöntemleriyle izolasyonuna dayanmaktadır.

Kültür için alınan örneklerin ilk iki saat içinde ekimlerinin yapılması, yapılamayacaksa, Cary-Blair taşıma besiyeri ^{5,17} veya tiyoglikolatlı buyyon bazlı; % 0.16 agar ile vankomisin (10 mg/L), trimetoprim (5 mg/L), sefalotin (15 mg/L), polimiksin B (2500U/L) ve amfoterisin B (2 mg/L) içeren Campy thio besiyerine alınması ve ekim yapılana kadar 4°C'de saklanması gereklidir. ^{17,24} Cary-Blair taşıma besiyeri, *Campylobacter* türlerinin yanısıra diğer enterik patojenler için de uygun olan ¹⁷ yarı-katı bir taşıma besiyeridir. Amies ve Stuart besiyerleri de kullanılabilir. ⁵

C. jejuni türlerinin pek çoğu sefalotine dirençli olduğu için izolasyonda kullanılan besiyerleri sefalotin içermeli ve hızlı üreyen enterik floranın üremesini engellemelidir. Bununla birlikte bazı *Campylobacter* türleri sefalotine duyarlı oldukları için antibiyotik içermeyen besiyerlerine de ekim yapılması uygun olmaktadır. ¹⁶



A; Gram boyama, B; Membran filtrasyon tekniği ile izolasyon, C; Kanlı agar, D; Campy BAP agar, E; Hızlı hippurat reaksiyonu, F; Kanlı agarda sefalotin ve nalidiksik asit diskleri etrafında üreme özellikleri, G; Triple sugar iron agarda hidrojen sülfid reaksiyonu

Şekil-1. *C. jejuni*'nin tanısal özellikleri

Mikroaerofilik özelliği olan *Campylobacter* türlerinin kültüründe uygun atmosferin oluşturulması için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bunlar, boşaltma-değiştirme işlemleri, dispoziibl gaz jeneratörleri ve Fortner prensibi kullanımınıdır ve Tablo-4’de gösterilmektedir. CO₂ inkübatörü ve mumlu kavanoz kullanımı ise önerilmemektedir.¹⁸

Tablo-4. *Campylobacter*’lerin kültürü için mikroaerofilik ortam oluşturmada kullanılan çeşitli işlemler

| METOD (Boşaltma-değiştirme) | İŞLEM |
|-----------------------------|--|
| 1 | Anaerobik şişenin havasının %75’i boşaltılır, %10 CO ₂ ve %90 N ₂ karışımı ile atmosferik basınca kadar doldurulur. Bir şişede altı besiyeri inkübe edilir. |
| 2 | Modifiye basınçlı pişiricinin havasının %75’i konteyneri iki kez -15 inç (-38 cm) Hg’ya kadar boşaltılır. %10 CO ₂ ve %90 N ₂ ile atmosferik basınca kadar yeniden doldurulur. Besiyerleri konteynerin hacminin yarısından fazlasını kaplayamaz. |

2.1.6. b. Direkt inceleme:

Dışkı örneği alındıktan sonra ilk iki saat içinde, örnek karanlık alan veya faz-kontrast mikroskopunda incelendiğinde *Campylobacter*’lerin tipik küçük, sıçrayıcı hareketleri görüldüğünde, hızlı laboratuvar tanısı konulmuş olur. Aynı şekilde dışkı örneğinin Gram boyalı preparatlarında; küçük, kıvrık S-şeklinde veya martı kanadı şeklinde, soluk pembe, uzun spiral formlarda Gram negatif basillerin görülmesi de (Şekil-1A) hızlı tanı için önemlidir.¹⁸ *Campylobacter* türleri Gram boyamada zayıf boyandıkları için safranin ile boyama süresinin 10 dakikaya uzatılması boyama yoğunluğunu arttıracığından önerilmektedir.¹⁸ Direkt mikroskopinin duyarlılığı % 50-75’dir.²⁰ *Campylobacter* enteritlerinde dışkının direkt mikroskopik incelemesinde olguların %75’inde bol eritrosit ve lökosit (nötrofil) görülmektedir.²⁰ Kültüre alternatif bir diğer metod ise polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı çeşitli moleküler analizlerdir.^{17,38}

2.1.6. c. *Kültür:*

Kültür Özellikleri

Üremeleri özel besiyeri ile uygun ısı ve mikroaerofilik ortam (%5 oksijen, %10 CO₂ ve %85 nitrojen) ¹⁸ gibi inkübasyon şartları gerektirdiğinden, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında *Campylobacter*'lerin izolasyonu zordur. Tüm *Campylobacter*ler 37°C'de ürerken, *C. jejuni* ve *C. coli* en iyi 42°C'de ürer. ¹⁶ Ayrıca bu ısıda dışkı florası da baskılandığından *Campylobacter*'lerin izolasyonu kolaylaşır. *C. fetus* ise 42°C'de üremez. Selektif besiyerleri kullanıldığı zaman 24–48 saatte görülen gri, mukoid ve ıslak görümlü koloniler *Campylobacter*'i düşündürmelidir. ^{5,16}

Kültür için en çok kullanılan besiyerleri; Butzler selective-medium, Blaser medium (Campy-BAP) ve Skirrow kanlı agar'dır. ¹⁸ Tablo-5'de dışkı örneklerinden *Campylobacter* türlerinin üretilmesi için kullanılan özel besiyerleri gösterilmiştir.

Merino ve ark. ³⁹ Preston besiyerinin, Karmali ve ark. ⁴⁰ ise kansız, kömür bazlı selektif besiyerinin Skirrow besiyerinden daha iyi sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. Inkübasyon süresinin 48 saatten 72 saate çıkarılmasının izolasyon oranını kullanılan besiyerine bakılmaksızın arttırdığı da öne sürülmüştür. ⁴¹

Dışkıda *C. jejuni* ve diğer termofil türler (*Arcobacter*) aranacaksa, 37° C ve 42° C'de inkübe edilen iki özel besiyeri setinin kullanılması gerekmektedir. ¹⁷ *C. fetus* izolasyonu ön planda ise sefalosporin içermeyen bir besiyeri kullanılmalı ve 37°C'de inkübe edilmelidir.

Campylobacter'ler hareketli ve ince basillerdir, bu nedenle ekimden önce, delikleri 0.45–0.65 µm çapında olan süzgeçlerden süzülmesi *Campylobacter* izolasyonunu kolaylaştırır ^{17,20} Dışkı örnekleri süzildükten sonra seçici olmayan bir besiyeri (çukulata agar gibi) kullanılsa dahi, *Campylobacter*lerin izolasyonu mümkündür. Bu amaçla, agar yüzeyine bir filtre (0.64-mm por çaplı selüloz asetat) yerleştirilir, filtreye bir damla dışkı damlatılıp plak dik olarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilir, filtre çıkarılır ve mikroaerofilik ortamda yeniden inkübe edilir. Bu durumda, *Campylobacter* kontamine dışkı florasından ayrılmış olur.

Tablo-5. *Campylobacter jejuni* izolasyonu için kullanılan seçici besiyerleri ve içerikleri

| BESİYERİ | İÇERİK |
|--|--|
| Butzler's selective medium | Fluid thioglycollate medium (Difco Laboratories, Detroit MI) |
| Skirrow's blood agar | Blood agar base No.2 (Oxoid) |
| Blaser's medium (Campy-BAP) | Brucella agar base (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) |
| Preston <i>Campylobacter</i> selective medium | Nutrient broth No.2 (Oxoid CM67) 1.2% New Zealand agar |
| Preston <i>Campylobacter</i> blood-free medium | Nutrient broth No.2 (Oxoid CM67) 1.2% New Zealand agar |
| Butzler virion medium | Columbia agar base (Oxoid CM331) |
| Modified Preston | Nutrient broth No.2 (Oxoid) |
| Charcoal-based blood-free selective | Columbia agar base (GIBCO) |

***Campylobacter* türlerinin dışkı örneklerinden izole edilmesi işlemi:**

Tipik koloniler, gri, beyaz, yassı, düzensiz, mukoid görünümlü olup, ekimden 24–48 saat sonra oluşur. Bazı koloniler ekim çizgisi boyunca yayılma özelliği gösterebilir. Kültürdeki tipik koloni görünümü, Gram boyama ile Gram negatif kıvrık basillerin görülmesi, oksidaz ve katalaz reaksiyonlarının pozitifliği ve hareketliliğine bakılarak *Campylobacter* cinsinin ön tanımlanması yapılabilir.²⁰ Steele ve McDermott tarafından tarif edilen membran filtrasyon tekniği Campy selektif besiyerine ekim ile kombine olarak kullanılabilir (Şekil-1B).⁴²

Kan

Bakteriyemi yapan *Campylobacter* türlerinin çoğu kan kültür ortamlarında ürerler fakat üreme görülmesi için bazen iki haftalık süre gereklidir.^{16,17} Sıvı besiyerlerinden yapılan subkültürler mikroaerofilik ortamda inkübe edilmelidir. Kan kültür ortamında bulanıklık genellikle görülmez; kör subkültürler ya da akrinin oranj boyası kullanılarak mikroskopik

inceleme gerekebilir. Kan kültürlerinde *Campylobacter* türlerinin varlığı, CO₂ izlenmesi ile etkili olarak belirlenebilir. ¹⁷

Diğer

Campylobacter türlerinin, dışkı ve kan dışındaki, ezilmiş doku veya yara eksüdası gibi diğer örneklerden izolasyonu son derece nadirdir. Örneklerin, selektif olmayan kan veya çukolata agar plağına ekilmesi ve 37° C'de CO₂ ile zenginleştirilmiş, mikroaerofilik ortamda inkübe edilmesi gerekmektedir. ¹⁷

2.1.6. d. İdentifikasyona yaklaşım:

Campylobacter türlerinin seçici agardaki morfolojileri düz, gri, düzensiz şekilli kuru veya ıslak kolonilerden; yuvarlak, konveks ve tüm sınırlarıyla parlak kolonilere kadar değişmektedir. ¹⁸ (Şekil-1C, D) Bununla birlikte kullanılan besiyerine bağlı olarak diğer koloni morfolojileri de görülebilir. ¹⁷ Bazı koloniler ekim çizgisi boyunca olabilir ve kanlı agarda hemoliz görülmez. ^{17,18} Seçici besiyerinde nadiren *Pseudomonas aeruginosa* gibi başka termofilik mikroorganizmalar da üreyebilir. ¹⁸ Ayırıcı tanı direkt mikroskopik inceleme ile yapılır. Mikroorganizmanın sıvı besiyerine alınarak hazırlanan preparatında karakteristik ani hızlanma hareketi ve kıvrık formları görülebildiği gibi, Gram boyama ile de incelenerek morfoloji tanımlanabilir. ¹⁷ Bütün patojenik *Campylobacter* türleri oksidaz ve katalaz pozitifdir. ¹⁷ *Campylobacter* türlerinin çoğu asakkarolitikdir, %3.5'lük NaCl içinde üreyemezler. ¹⁷ Nalidiksik asit ve sefalotine duyarlılık, türler arasında önemli bir ayırıcı özelliktir. ¹⁷ Bu özelliği araştırmak amacıyla yapılacak disk difüzyon testinde, mikroorganizmanın McFarland 0.5 bulanıklıktaki süspansiyonu, %5 koyun kanlı agar veya Mueller-Hinton agar plağına ekilir ve 30 mg (nalidiksik asit ve sefalotin) antimikrobiyal içeren diskler agar yüzeyine yerleştirilerek mikroaerofilik olarak 37°C'de inkübe edilir. ¹⁷ İzole edildikten sonra *C. jejuni*'nin her iki alttürünün (*C. jejuni subs. jejuni* ve *C. jejuni subs. doylei*) diğer *Campylobacter*'lerden ayırt edilmesi kolaydır: sadece *C. jejuni* hippuratı benzoik asit ve glisine hidroliz eder. ^{19,43} (Şekil-1E)

Ayırıcı tanıda kullanılan diğer testler hızlı hippurat hidroliz testi, TSİ besiyerinde hidrojen sülfid (H₂S) üretimi, nitrat redüksiyonu ve indoksil asetat hidrolizidir. ⁴⁴ Hüresel yağ asit analizi de türler arasındaki ayırmada yararlı olabilir. ¹⁷ Tür ayırımında, partikül

aglutinasyon metodları ve nükleik asit problemlerinin kullanıldığı birkaç ticari ürün de mevcuttur¹⁷. Nükleik asit problemleri kültür confirmasyonunda kullanılabilir.¹⁸

16s rRNA geninin PCR-bazlı amplifikasyonunu ve PCR ürününün direkt sıralamasını kullanan moleküler analiz yöntemleri *Campylobacter* türlerinin çoğunu başarıyla tanımlamıştır. Bu yöntemler, *Arcobacter* ve *Helicobacter* gibi oldukça yakın grupların *Campylobacter* türlerinden ayrımını sağlamaktadır.¹⁷

Latex aglutinasyon testi ile *C. jejuni* ve *C. coli*'yi tanımlanmamaktadır^{18,24} Meritec-Campy testi (Meridian Diagnostics, Inc., Cincinnati, USA), kültürle izole edilen kolonileri tanımlayabilmek için kullanılan, lateks aglutinasyon testidir. *C. jejuni*, *C.coli* ve *C.lari* tanısında kullanılır. Campy-slide lateks aglutinasyon testi (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. fetus* türlerinin tanımlamasında kullanılır.^{20,24}

Tablo-6'de *Campylobacter*'ler ve tıbbi önemi olan ilişkili grupların (*Arcobacter*, *Helicobacter*) ayırıcı özellikleri gösterilmektedir.

2.1.6. e. Kültür dışı testler

Accuprobe *Campylobacter* Kültür İdentifikasyon Testi (Accuprobe; Gen-Probe Inc., San Diego, California, USA) bir DNA-prob bazlı testtir ¹⁸, *C. jejuni* ve *C. coli* ve *C. lari*'nin hızlı identifikasyonunu sağlar. Prob nonradiometriktir, kemiluminisan acridinium ester ile etiketlenir. ELISA testi ile seçilmiş rekombinan *C. jejuni* proteinlerinin serolojik tanıyı kolaylaştırdığı bilinmektedir. ⁴⁵

2.1.6. f. Serolojik Tanı

Serolojik tanının halen yaygın kullanımı bulunmamaktadır. ¹⁷ *C. jejuni*'nin virülans özellikleri ve *Campylobacter* antijeninin dışkıda direkt belirlenmesi amacıyla enzim immünoassay yönteminin kullanıldığı kitler (ProSpecT *Campylobacter*, Alexon-Trend, Minneapolis, USA) geliştirilmiştir. ⁴⁶ Bu yöntemin duyarlılığı, *Campylobacter* kültürüne göre daha düşük olmasına rağmen (duyarlılık; %80–96) *C. jejuni*/*C. coli* için özgüllüğü oldukça yüksektir. ⁴⁶ *Campylobacter* türlerinin dışkı örneklerinde direkt belirlenmesi için PCR yöntemi de kullanılmaktadır. ⁴⁷

C. jejuni'nin, *C. jejuni subsp.jejuni* (Cjj) ve *C. jejuni subsp.doylei* olmak üzere (Cjd) iki alttürü bulunmaktadır. Cjd suşları, daha az sıklıkla izole edilmesine rağmen daha farklı klinik semptomatolojiye sahiptir ve bakteriyemiye de neden olmaktadır. Bu iki alttür arasındaki ayırım için nap multiplex PCR primer setlerinin kullanılması önerilmiştir. ⁴⁸

Campylobacter infeksiyonlarından sonra hastalarda yüksek titrede antikorlar gelişir. Bu antikorlar indirekt hemaglutinasyon yöntemi ile gösterilebilir. Bugün için serolojik yöntemler hastalığın rutin tanısında değil, sadece araştırma çalışmalarında kullanılmaktadır.

Campylobacter türleri Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğünün, “Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi”nde Grup D infeksiyon etkenleri arasında yer almaktadır. Bu mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanması için suşların referans laboratuvarlara gönderilmesiyle, ülkeye özgü mikroorganizma türlerinin belirlenmesine ışık tutması hedeflenmektedir. ⁵

2.1.7. Tedavi

Campylobacter enteritlerinin tedavisinde ilk adım, diğer ishallerde olduğu gibi sıvı ve elektrolit kayıplarının yerine konulmasıdır. Bütün hastalara antibiyotik tedavisi verilmesi gerekmez. 38.5°C'yi aşan yüksek ateş, kanlı ishal, günde 10'un üzerinde dışkılama sayısı olan ve bir haftadan uzun süren ishallerde antibiyotik tedavisi gereklidir. Ayrıca, kalıcı ve ciddi hastalığı olanlar, immünyetmezlikli hastalar, yaşlılar ve hamileler de antibiyoterapi yapılması gereken olgulardır. ¹⁶ Bununla birlikte olguların antimikrobiyal tedavisine erken başlanması, bakterinin dışkıdan eliminasyonunda etkilidir. Yanıt, tedaviye erken başlanılmışsa iyidir. ²⁰ *Campylobacter* türleri için duyarlılık testleri standardize edilmediği için izolatların duyarlılık testleri rutin olarak gerçekleştirilmemektedir. ¹⁷ *C. jejuni* ve *C. coli* makrolidler (eritromisin, azitromisin, klaritromisin), kinolonlar (siprofloksasin ve ofloksasin), nitrofuranlar (furazolidin), tetrasiklinler ve klindamisine gibi pek çok antibiyotiğe duyarlıdır. ^{16,49} Ucuz, güvenli, kullanımı kolay ve fekal flora üzerinde diğer antibiyotiklere göre daha az inhibitör etkisi olduğu için eritromisin ilk tercih olup, ¹⁶ yetişkinlere 6 saat ara ile 250 mg, çocuklara 30 – 50 mg/kg/gün dozunda 5–7 gün süreyle uygulanmalıdır. Birkaç yıl öncesine kadar florokinolonlar ilk tercih edilecek ilaç olmak üzereyken florokinolon-dirençli *Campylobacter* türlerinin dünyada hızla artmasından dolayı kullanımları azalmaktadır. ¹⁶ *C. jejuni* türleri sefalosporinler, vankomisin ve rifampisine %100, tetrasikline %25 oranında dirençlidir. ¹⁶ Sistemik infeksiyonlarda parenteral tedavi kullanılmalıdır. ¹⁷

2.1.8. Korunma

Campylobacter'lerin meydana getirdiği pek çok infeksiyon kontamine yiyecek ve su tüketimi ile meydana geldiği için hayvanlardan, özellikle kümes hayvanlarından elde edilen bütün yiyecekler çok iyi pişirilmeli, ^{16,17} sütler pastörize edilmeli ve içme suyu klorlanmalıdır. ¹⁷ Kümes ürünlerinden diğer yiyeceklere çapraz-bulaşmayı önlemek için yiyeceklerin hazırlanmasında dikkatli olunmalı ¹⁷, kullanılan malzemeler (bıçak, tabak v.s.) sıcak, sabunlu su ile yıkanmalıdır. ¹⁶

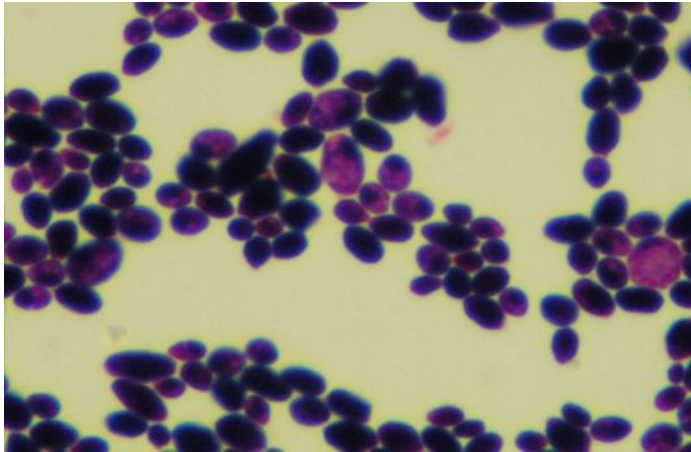
Kişiden kişiye bulaşma nadir olmasına rağmen akut diyareli kişiler yemek hazırlamamalı, tuvalet sonrasında ve evcil ya da diğer hayvanlara temas sonrasında eller yıkanmalı, pastörize olmayan sütler özellikle hamileler, yaşlılar ve immün yetmezlikli kişiler tarafından içilmemeli, gelişmekte olan ülkelere seyahat edenler işlenmemiş suları

tüketmemelidirler. ¹⁶ *Campylobacter* türleri için aşı bulunmamakla birlikte ¹⁷, aşı üretilse bile rutin olarak kullanılması da önerilmemektedir. ¹⁶

2.2. *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*)

S. boulardii, *Saccharomycetaceae* ailesi üyesi, 4–8 µm boyutlarında, oval ve sferik görünümde askospor oluşturan, standart mantar besiyerlerinde optimal 37°C' de üreyen, karbohidratları fermente ve asimile edebilen, Gram-pozitif boyanma özelliği gösteren bir mayadır ¹² (Şekil-2). *S. boulardii*, bütün gastrointestinal sistem boyunca canlı kalabilmekte, ⁴⁹ akut infeksiyöz gastroenterit ve antibiyotik-ilişkili diyarenin tedavisinde liyofilize preparasyon olarak oral yolla uygulanmaktadır. ⁵⁰

Saccharomyces cinsindeki türler *S. bayanus*, *S. boulardii*, *S. cerevisiae*, *S. pastorianus* ve *S. uvarum*'dur. *S. boulardii*'nin *S. cerevisiae*'nin bir alt türü olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. ^{51,52} *S. boulardii* nonpatojen olarak bilinmesine rağmen, askospor oluşturmamaktadır ve bu nedenle immünoşüpresyonlu hastalarda potansiyel patojen olabileceği şeklinde bir görüş ileri sürülmektedir. ^{9,12,52}



Şekil-2. *S. boulardii*'nin Gram boyamadaki görünümü

S. boulardii ilk kez 1923 yılında Fransız araştırmacı Boulard tarafından Endonezya'da yetişen ve kabukları bölge halkı tarafından ishal tedavisinde kullanılan “lychee” (lişe, tropik bir meyve) meyvesinden izole edilmiş ve diyare tedavisinde kullanımına 1950'de Fransa'da

başlanmıştır. ⁵³ *S. boulardii*'nin liyofilize formu 1962' de Laboratories Biocodex (Montrouge, Fransa) tarafından başlıca kullanım alanı antibiyotik ilişkili diyare olarak piyasaya sunulmuş olup, halen pek çok ülkede klinik kullanımı mevcuttur. ^{51,53} FDA (Food and Drug Administration) *S. boulardii*'yi Faz III klinik denemeler aşamasında incelemektedir. ⁵⁴

2.2.1.Gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri

Farmakokinetik

S. boulardii'nin diğer kolon florası üyelerinden ayrımının yapılabilmesi farmakokinetik çalışmaların yapılabilmesine imkan tanımıştır. Bu çalışmalarda *S. boulardii*'nin, kolonda hızlıca yüksek konsantrasyonlara çıkması, sabit bir düzeyde kalması, kolonu kalıcı olarak kolonize etmemesi ve bağırsaklardan kolayca ayrılmaması bir tedavi aracı olarak uygun olduğunu ortaya koymuştur. ⁵⁵

Gnotobiotik farelerde tek doz *S. boulardii* ile bağırsaklarda kolonizasyon sağlanmış ve maya kolonda düşük miktarda da olsa (10^7 cfu) 60 gün boyunca izole edilebilmiştir. ⁵⁶

İmmünolojik cevap

S. boulardii'nin invitro koşullarda komplemanı direkt olarak aktive ettiği ve C3b'yi fikse ettiği belirlenmiştir. ⁵⁴ *S. boulardii*'nin mononükleer hücreler tarafından fagositozu kompleman-bağımlıdır. ⁵⁷ *S. boulardii*'nin oral yoldan uygulanımı ratların ince bağırsağında sekretuvar IgA ve sekretuvar komponentlerin artışını sağlamaktadır. ⁵⁴

2.2.2.Etki mekanizması

Bağırsaklardan kolaylıkla translokasyona uğramaz ve kolonizasyonu kalıcı değildir. Yarılanma ömrü altı saattir. Yalnızca lümen içerisinde etkisini gösterir, bağırsak hücrelerine invaze olmaz ve gastrointestinal sistemden geçişi sırasında metabolizma faaliyetini sürdürür. Yapılan bir çalışmada günlük bir gr *S. boulardii* verilen gönüllü sağlıklı insanlarda 4–5 gün sonra normal florada bir değişiklik meydana gelmemiş ve total anaerop, *Bacteroides* ve *Clostridium* türlerinin konsantrasyonunda önemli bir değişiklik saptanmamıştır. ⁵⁴ İn vivo çalışmalarda *S. boulardii*'nin uygulanmasıyla dışkıda 3–5 günde yüksek konsantrasyonlara

ulaştığı ve uygulamanın kesilmesinden 2–6 gün sonra dışkıdan izole edilmediği belirlenmiştir.^{58,59} *S. boulardii*, nistatine benzer antifungal ajanlara duyarlı, antimikrobiyal ilaçlara gastrik aside ve proteolitik etkilenmeye dirençlidir.^{9,60}

S. boulardii gastrointestinal kanalda normal flora bakterilerine etki etmemektedir; ancak normal flora dengesi patojen bakteriler tarafından bozulduğunda, bu patojenlerle yarışmaya girerek konak lehine değişiklikler meydana getirmektedir.

Gültekin¹¹, *S. boulardii*'nin *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Shigella* ve *E. coli* üremesini baskıladığını bildirmiştir.

Yoğurt, peynir, kefir gibi fermente ürünleri kullananlarda bazı infeksiyon hastalıklarının daha az görüldüğüne ilişkin gözlemler, bilim adamlarını tarihsel süreç içerisinde canlı mikroorganizmalar ile çalışmalar yapmaya yönlendirmiş ve laktik asit bakterilerinin kullanımının konaktaki etkilerini araştıran Rus bilim adamı İlya Metchnikoff (1845-1915) probiyotik (yaşamsal canlı) kavramını tıp dünyasına sunmuş, Bulgar çiftçilerin fermente süt ürünleri tüketmeleri sonucu daha sağlıklı ve uzun ömürlü olduklarını, bunun nedenini ise; bu ürünlerde bulunan çubuk şeklindeki bakterilerin (*Lactobacillus* spp.) bağırsaktaki mikroflorayı olumlu yönde etkilemesi ve toksik mikrobiyal aktiviteyi azaltması şeklinde açıklamıştır.¹¹

S. boulardii bir probiyotiktir.⁵⁴ Dünya Sağlık Örgütü probiyotikleri şu şekilde tanımlamıştır: uygun dozda uygulandığında, konakta olumlu, sağlıklı etki yapan canlı mikroorganizmalar. Probiyotiklerin bir diğer tanımı ise; bağırsakta kolonize oldukları zaman insan sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösteren mikroorganizmalar şeklindedir.⁶¹ Biyoterapötik ajanlar (biyolojik ajanlar) ise ilaç olarak ruhsatlandırılmış probiyotiklerdir.

Probiyotikler olarak en sıklıkla kullanılan mikroorganizmalar şunlardır:

Gıda probiyotikleri: *Lactobacillus rhamnosus* (önceden; *Lactobacillus casei* strain GG veya *Lactobacillus GG*), *L. plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *L. shirota*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB–12, *B. bifidum*

Gıda-dışı probiyotikler: *Enterococcus faecium* SF68, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus thermophilus*, *Escherichia coli* Nisse 1917 gibi bakteriler ile *S. boulardii* maya mantarı.^{11,61,62}

Sağlık açısından faydalı etkileri ölçülebilen ve fonksiyonel özellikleri olan probiyotik suşlar elde etmek için Tablo-7’de gösterilen kriterlere sahip suşların seçilmesi gerekmektedir.

63

Tablo–7. Probiyotik seçim kriterleri

| Probiyotik türün özellikleri | Açıklama |
|--|---|
| İnsanlar için kullanılacak ürünlerde insan kaynaklı suşların kullanımı | İnsan orijinli olmamasına rağmen insanlar için kullanılan <i>S. boulardii</i> gibi bir örneğe rağmen türe bağlı sağlık etkileri açısından bu özellik önem taşımaktadır |
| <i>Asit ve safra tuzlarına direnç</i> | <i>Diğer kullanımlar için olmasa bile ağızdan yapılan uygulamalarda mikroorganizmanın canlı kalma, metabolik aktivitesini devam ettirebilme ve tutunabilme özelliklerini sürdürebilmesi önemlidir</i> |
| Mukozal yüzeylere tutunma | İmmün sistemin güçlendirilmesi, patojenlerle yarışmalı rekabet, tutunmanın engellenmesi ve kolonizasyonun engellenmesi açısından önemlidir |
| <i>Gıda ve klinik amaçlı kullanımlarda güvenilirlik</i> | <i>Suşların doğru olarak tanımlanmaları ve özelliklerinin belirlenmesi</i> <i>İntestinal sistemde mukozal yapıya zarar vermeyen ve invazyon özelliği olan suşların kullanılmaması</i> |
| Klinik olarak kanıtlanmış ve sağlık üzerine olumlu etki | Her bir farklı suşun veya ürünün minimum etki dozunun belirlenmesi plasebo kontrollü ve çok tekerrürlü canlı denemelerinin gerçekleştirilmesi |
| <i>Teknolojik açıdan üstün özelliklere sahip suşlar</i> | <i>Suşun stabilitesi, faj dirençliliği, üründe canlı kalabilme kabiliyeti (canlı mikroorganizma gereksinimi varsa), büyük ölçekte üretime uygunluk, ürün tadına olumsuz etkisinin olmaması, oksijen direnç kabiliyeti</i> |

Probiyotiklerin etkileri konusunda çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür:

1) Patojeni inhibe eden veya öldüren maddelerin üretimi yoluyla antagonizm: Probiyotikler patojen bakterilerin üremesini engelleyen inhibitör antimikrobiyal peptid (mikrosin,

bakteriyosin) ⁶⁴, organik asitler (laktik, asetik, bütirik) ve H₂O₂ ⁶² üretir. Örnek; *S. boulardii*, *C. albicans*, ¹¹ *S. typhii*, ¹⁰ *Shigella* spp., ¹⁰ *E. coli*'nin ¹¹ üremesini baskılar.

2) Patojen ile adezyon bölgeleri veya besin kaynakları açısından yarışma: Sayı ve hacim avantajları ile bağırsak ve ürogenital sistem epitel hücrelerine patojenlerin girmesini zorlaştırır, epitel bariyeri güçlendirerek patojen translokasyonu önlerler. ^{11,62,64,65} Örnek; *S. boulardii* eritrositlerdeki *E. histolytica* reseptörleri için yarışır ve trofozoit sayısında azalma sağlar.

3) Konağın immünomodülasyonu: Erken çocuklukta humoral immünitinin olgunlaşması ⁶⁶, farelerde lamina propriada lenfosit proliferasyonu, plazma hücrelerinde artış, peyer plaklarında antikor üretiminde artış, yardımcı T-lenfosit hücre sayısında artış, C3 reseptör ekspresyonunda artış saptanmıştır. ¹¹ Ayrıca sekretuvar IgA komponent düzeyinde artış da bildirilmiştir. ⁶⁷

4) Bakteriyel toksin üretiminin veya etkisinin inhibe edilmesi: *S. boulardii* 54 KDa proteini proteaz aktivitesindedir, *C. difficile* toksin A üzerine direkt olarak ve toksinin reseptöre bağlanmasını önleyerek etki eder. ^{62,64}

5) Metabolizma üzerine etkiler: Bağırsak enzim aktivitesine etki ederler, laktaz, maltaz, sukraz aktivitesini arttırmaları, bağırsakta vitamin üretiminde rol oynarlar. ⁶⁴ Kolonda zenginlikli yiyeceklerin sindirimi sonucu ortaya çıkan bütirat ve bütirik asit, kolon mukozal hücrelerinde farklılaşma ve apoptoza yardım eder. ⁶⁶ *S. boulardii*, aminopeptidazların olgunlaşmasını sağlar. ¹¹

6) Patojenlerin üremek için gereksinim duydukları besin maddelerini tüketerek üremelerinin inhibe edilmesi: *S. boulardii*, *C. difficile*'nin ihtiyaç duyduğu monosakkaridleri tüketerek üremelerini inhibe eder. ⁶⁴

7) Diğer: Bağırsak pH'nın azaltılması, patojenik mikroorganizmaların aglütinasyonu, bağırsak-koruyucu metabolitlerin (arjinin, glutamin, kısa-zincir yağ asitleri, konjuge linoleik asitler) üretimini sağlar. ⁶²

Etki mekanizmalarından ilk üçü genel olarak *laktobasiller*, dördü ve beşinci mekanizma ise *S. boulardii* için geçerli olarak görülmektedir. Akut viral diyare, ve antibiyotik-ilişkili diyare probiyotiklerin potansiyel faydalarının görülebileceği alanlar olarak değerlendirilmektedir. ⁵³

Prebiyotikler ise konağın sağlığı için faydalı gastrointestinal mikroorganizmaların yapısı veya aktivitesi üzerinde spesifik değişiklikler oluşturan, sindirilemeyen, seçici fermente

edilmiş bileşiklerdir. ^{68,69} Floranın metabolik fonksiyonlarını iyileştirdiği, bağırsak mukozal bariyere katkıda bulunduğu, floranın trofik görevlerini düzenlediği, inflamatuvar bağırsak hastalığında yararlı oldukları ⁶⁶, minerallerin (Ca, Mg) emilimini ve biyoyaralanımını arttırdıkları; kan, kolesterol ve trigliserid düzeylerini olumlu yönde düzenledikleri ⁶⁹ belirtilmiştir. Prebiyotik olarak bildirilen oligosakkaridler şunlardır: laktuloz, palatinoz, ksilooligosakkaridler, glukooligosakkaridler, galaktooligosakkarid (kuru baklagiller) ve fruktooligosakkarid (oligofruktoz ve inülin; buğday, arpa, çavdar, soya, muz, sarımsak, pırasa, yerelması, hindiba, kuşkonmaz, bezelye), soya oligosakkaridleri ⁶⁸, inülin. ^{62,70} Bunlardan sadece inülin (fruktoz polimerlerinin heterojen karışımı) ve inülin-tip fruktanlar ile galaktooligosakkaritler günümüzde prebiyotik tanımına tam olarak uymaktadır. ⁶²

Bir prebiyotığın en önemli özelliği bağırsak sindirim enzimlerince parçalanmaması fakat kolon mikroorganizmaları tarafından fermente edilebilmesi ile bifidojenik olması (intestinal florada bifido bakterilerin çoğalmasını uyararak) ve pH-düşürücü etkisinin olmasıdır. ⁶²

Simbiyotikler, probiyotik ve prebiyotiklerin kombinasyonundan elde edilen ürünlerdir. Kullanılmaları ile probiyotiklerin üst gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında canlılıklarını daha fazla koruduğu bildirilmiştir. ⁶⁶ Japonya'da "fonksiyonel gıda", Avrupa'da ise "yeni gıda veya yeni geliştirilmiş gıda" olarak isimlendirilmektedirler. Simbiyotiklerin, başta bitkisel steroller olmak üzere kan basıncı ve kolesterol düşürücü olarak etki gösterdikleri iddia edilmektedir.

2.2.3.S. *boulardii*'nin mikrobiyal etkileşimleri

Normal flora üzerindeki etkileri

Sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada (1 gr/gün *S. boulardii*) 4-5 günlük bir kullanımdan sonra normal kolon florasında önemli değişiklikler görülmemiş; total anaerob, *Bacteroides* spp. ve *Clostridium* spp. konsantrasyonlarında da önemli bir azalma ve artış saptanmamıştır. ⁷¹

Spesifik mikrobiyal etkileşimleri

S. boulardii, sağlıklı bireylerde bağırsak mikroflorasında belirgin bir etki oluşturmaksızın uygulanabilir. Aşırı çoğalmış patojen mikroorganizmaların varlığında *S. boulardii*'nin, diyare etkeni olan birkaç etiyolojik ajanın ve ilişkili toksinlerinin konsantrasyonunda azalma meydana getirdiği gösterilmiştir. ⁵⁴

Clostridium difficile: Erişkinlerde antibiyotik ilişkili diyare ve psödomembranöz kolit tablolarına neden olmaktadır. Bakteriyel toksinleriyle inflamasyon ve mukozal hasar meydana getirirler. *S. boulardii*'nin çeşitli çalışmalarda *C. difficile* ilişkili diyarelerde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Bu konuda Toothaker ve Emler 'in, ⁷² hamster modelinde yaptığı bir çalışmada, *S. boulardii* uygulandıktan sonra klindamisin verilen hayvanlarda mortalitede önemli azalmalar saptanmıştır. Mortalite oranı, *S. boulardii* ile tedavi edilenlerde % 51, edilmeyenlerde % 80 olarak izlenmiştir. Diğer bir çalışmada Czerucka ve Rampal ⁹, gnotobiotic fare modelinde *S. boulardii*'nin *C. difficile* sayısına direkt etkisinin olmadığı ancak fekal sitotoksin titrelerini yaklaşık 1000 kat düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Pothoulakis ve ark. ⁵⁴ ratlarda *S. boulardii*'nin antisekretuar etkisini göstermiştir. Bu etkinin *C. difficile*'nin toksinlerine karşı serin proteaz aracılığıyla olduğunu, spesifik reseptör bölgelerini azalttığı görüşünü ileri sürmüşlerdir.

C. difficile infeksiyonlarında *S. boulardii*'nin etkisinin; bir proteaz üreterek ve *C. difficile*'nin toksinlerine ve etki ettiği reseptörlerine bağlanarak etkisiz hale getirerek ⁵⁹ veya *C. difficile*'nin gereksinim duyduğu monosakkaritleri tüketerek, bakteri üremesini engellemek yolu ile gerçekleştirildiği ortaya konulmuştur. ¹¹

Candida albicans: İmmünyetmezlikli hayvan modellerinde ve insanlarda, *C. albicans*'ın bağırsaklardan vücudun diğer bölgelerine yer değiştirdiği bilinmektedir. Diyare oluşumunda *Candida* türlerinin rolü tartışmalıdır; ancak bu etken, immünyetmezlikli hastalarda fırsatçı patojendir. Berg ve ark. ⁵⁵, *S. boulardii*'nin bu fenomeni inhibe edip edemeyeceğini araştırmışlar ve *S. boulardii* uygulanan farelerde uygulanmayanlara göre mezenterik lenf nodu ve dalak yerleşiminde daha düşük oranlar (%53, %72; sırasıyla) tespit etmişlerdir.

Ducluzeau ve Bensaada ⁵⁶, *C. albicans*'a karşı *S. boulardii*'nin in vitro etkinliğini göstermiş; deneysel çalışmalarda *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. pseudotropicalis*'in dışındaki proliferasyonunu inhibe ettiği, *C. tropicalis*'e ise etkisinin olmadığı belirtmişlerdir.

Vibrio cholerae: *S. bouldardii*'nin, *V. cholerae* infeksiyonunda ratların ince bağırsağında morfolojik hasarı önlediği yapılan anatomo-patolojik çalışmalarda gösterilmiştir. *V. cholerae* toksini, B kısmı ile bağlanarak, A kısmı ile de adenilat siklazın aktivasyonunu arttırarak cAMP artışına neden olur. Böylece kript hücrelerinden klor ve bikarbonat sekresyonu artarken, villüslerden klor absorpsiyonu inhibe olur. *S. bouldardii*'nin iyon transportunu inhibe ettiğine dair görüşler vardır. Bununla birlikte *S. bouldardii*'nin ratlarda klor transportu üzerine direkt etkisinin olduğu da gösterilmiştir. ^{15,73}

Escherichia coli: Masso ve ark. ⁷⁴, *S. bouldardii* ve *E. coli* uyguladıkları farelerde; sadece *E. coli* verilen hayvanlarda ortalama bağırsak ağırlığı/vücut ağırlığı oranının *E. coli* ve *S. bouldardii* uygulananlara göre daha yüksek olduğunu ve ölü *S. bouldardii* hücrelerinin *E.coli*-ilişkili sıvı sekresyonunu azlatma açısından etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Enterobacteriaceae: *S. bouldardii*'nin *S. dysenteriae*'ya karşı etkin olduğu ortaya konulmuştur. ¹² Rodrigues ve ark. ¹⁴ ise, gnotobiotic ve normal farelerde *S. bouldardii*'nin *S. typhimurium* ve *S. flexneri* infeksiyonlarında, mortalite ve elde edilen histopatolojik verilere göre koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir. İntestinal mukozaya adhezyon enterik bakterilerin virulansında en önemli özelliştir. *S. bouldardii* ve bu patojenlerin adhezyon bölgesi için birbirleriyle yarıştıkları iddia edilmiştir. ¹⁴

Etki mekanizması bilinmemekle beraber Zbinden ve ark. ⁷⁵, in vitro deneylerde *S. typhimurium* ve *Yersinia enterocolitica*' ya karşı inhibe edici etki saptamışlardır. Massot ve ark. ⁷⁶, infantil farelerde *S. bouldardii*'nin *E. coli*' nin enterotoksijenik türlerinin termostabil (ST) toksinine karşı etkinlik belirlemişlerdir. Herwig ve ark. ⁷⁷, insanlarda proflaktik olarak verilen *S. bouldardii*'nin turist diyaresi meydana gelme sıklığında anlamlı azalmaya neden olduğunu belirtmiştir. Ayrıca *EPEC* türlerine karşı invitro etkinlik saptanmıştır. *EPEC* infeksiyonunda in vivo deneylerde, *S. bouldardii*'nin intestinal mukozada protein fosforilasyonunu azaltarak etki gösterdiği belirlenmiştir. ⁹

Turist diyaresi: *S. bouldardii*'nin turist diyaresi (*ETEC*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*) insidasını önemli düzeylerde azalttığı bildirilmiştir. ⁷⁸

Helicobacter pylori: Gotteland ve ark.⁷⁹, okul çocuklarında yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* kullanımının *H. pylori* kolonizasyonu inhibe ettiği yönünde bulgular elde etmiş fakat bunun sebebini ortaya koyamamıştır.

Staphylococcus aureus: *S. boulardii*'nin besin zehirlenmesi etkeni *S. aureus* üzerine direkt antagonistik etkisi olduğu bildirilmiştir.¹²

Rotavirus: *S. boulardii*'nin rotavirus infeksiyonlarındaki etkisi tartışmalıdır. *Rotavirus* infeksiyonunu takiben kronik ishal gelişen olgularda oral *S. boulardii* uygulaması ile olumlu sonuçlar alınmasına rağmen⁸⁰, *rotavirus* ile infekte edilen farelerde yapılan deneylerde *S. boulardii* uygulanmasının *rotavirus*'un bağırsaklarda meydana getirdiği değişikliklere etkisi olmadığı gösterilmiştir.⁸¹

Entamoeba histolytica: Gültekin¹¹, *S. boulardii*'nin eritrositlerdeki *E. histolytica* reseptörleri için yarıştığı ve trofozoit sayısında azalma sağladığını bildirmiştir. Pena ve ark.⁸² ise, ratlarda *S. boulardii*'nin in vitro etkinlik göstermediğini, fakat tedavi ile lezyonların sayı ve şiddetinde azalma olduğunu ve daha hızlı iyileştiğini göstermişlerdir. Erdev ve ark.⁸³ ise bir diğer çalışmada amipli dizanteri tanısı almış hastalarda tedaviye ek olarak verilen *S. boulardii*'nin, kontrol grubuna göre kist pasajını ve klinik semptomları azalttığı belirtilmişlerdir.

HIV ile İlişkili Diyare: AIDS' te en sık kronik diyare olmak üzere gastrointestinal problemler çok sık görülmekte ve tedavide zorluklar yaşanmaktadır. Saint-Marc ve ark.⁸⁴, yaptıkları bir çalışmada HIV hastalarında *S. boulardii* verilenlerin % 38,9'unda, kontrol grubundakilerin ise %88,2'sinde diyare geliştiğini bildirmişlerdir. Etki mekanizması olarak inflamasyonu azalttığı ya da immün cevabı arttırdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte immün sistemi baskılanan hastalarda sistemik bir infeksiyona neden olabileceği de unutulmamalıdır.⁸⁵

Giardia lamblia: Guillot ve ark.¹⁰ *S. boulardii*'nin, giardiasis'in klinik bulgu veren periyotlarında spesifik tedaviyle beraber kullanıldığında, klinik ve histolojik olarak hızlıca düzelme sağladığını belirtmişlerdir.

2.2.4.Klinik kullanımı

S. boulardii diyarenin çeşitli tiplerinin tedavisinde önleyici etkisi olan ajan (antibiyotik ilişkili diyare) ya da tedavi edici olarak (nazogastrik tüp ilişkili diyare, *C. difficile* ile ilişkili erişkin ve çocuk diyaresi, HIV ile infekte hastaların kronik diyaresi, turist diyaresi, erişkin ve çocuk diyaresi) kullanılmaktadır. ^{13,54,86,87}

2.2.5.Kullanım şekli, güvenlik ve yan etkileri

S. boulardii'nin liyofilize toz şeklinde kapsül veya saşe olarak, oral yol ile günde en az bir kere tercihen mide boş iken alınması önerilmektedir. Nistatin, flukonazol gibi azol türevleri ve amfoterisin B gibi antifungaller dışında başka ilaçlarla etkileşimleri bilinmemektedir. Hastaların tedaviyi iyi tolere ettiği gözlenmiş ve günümüze kadar herhangi bir toksisite olgusu bildirilmemiştir. AIDS seyrinde kronik ishal gelişen ve diğer ilaçlara yanıt alınamayan bazı hastalarda, *S. boulardii* tedavisi sırasında ağızda tad değişikliği ile karında şişkinlik- meteorizm ve dispeptik yakınmalar ortaya çıkmaktadır. ¹²

Oral kullanım sonrası *S. boulardii*'nin canlılığının %1'den daha az olduğu bildirilerek, asidik ortamda degradasyonunun engellenmesi için aköz süspansiyon için mikrokapsülasyon ve freeze-dried formu için tablet formülasyonu geliştirilerek, koruyucu etkisi olan her iki formun da, bağırsakta salınımının daha hızlı olduğu iddia edilmiştir. ⁸⁸

S. boulardii'nin kullanımını sınırlandırabilecek en önemli yan etki, translokasyon riskidir. ¹¹ Bir diğer teorik risk de probiyotiklerden diğer mikroorganizmalara direnç geni aktarımıdır. Ancak *S. boulardii* bir maya mantarı olduğundan antibiyotik direnci doğal dirençtir ve diğer türlere nakledilemez. ¹¹

İmmünyetmezlikli hastalarda *S. boulardii* uygulamasında nadiren fungemi ve sepsis gibi komplikasyonlar bildirildiğinden tedavide *S. boulardii* kullanımında yarar ve zarar potansiyeli dikkate alınmalıdır. ⁸⁹

2.2.6. *Saccharomyces boulardii*'nin diğ er etkileri

Bornet ve Bergogne-Berezin ⁹⁰, nazogastrik tüp ile beslenen hastaların besinlerine bazı mikroorganizmalar eklenerek yaptıkları bir çalışmada 2–5 x 10⁶/ml *S. boulardii* varlığında *P.aeruginosa* ve *S. aureus* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit etmişler, *K. pneumoniae* üremesinde ise yavaşlama meydana gelirken bakteri sayısında anlamlı azalma gözlelenmemişlerdir.

Kullanılan ilaca bağılı olarak sıklığı değışmekle birlikte antibiyotik kullanımı sonucunda orta (diyare ve kandidiasis) ve geç dönem (kolit) komplikasyonlar ortaya çıkabilir. ⁹⁴ Bu gibi komplikasyonların mekanizması B vitamini üreten mikroorganizmaların yıkımı, normal bağırsak florasının bariyer etkisinin bozulması ile kolonik mukozada hasar ve fırsatçı mikroorganizmaların çoğalma yeteneğinin gelişmesiyle ilgilidir. ⁹¹ *S. boulardii*'nin B vitamini sentezleyerek vital kompetisyon ile antimikrobiyal etki gösterdiği ve bariyer görevi görerek fırsatçı mikroorganizmaların çoğalmasını engellediğı bildirilmiştir. ⁹¹ Ayrıca *S. boulardii*'nin enteral beslenen preterm 28–32 haftalık bebeklerde iyi tolere edildiğı ve dışkı florasına yararlı etkileri olduğı gözlenmiştir. ⁹²

Diğ er çalışmalar ise; yetişkinlerde *S. boulardii*'nin, tüple beslenen hastalarda diyare sıklığına % 25 azaltması ⁸⁶, enteral beslenen hastalarda ⁹³ ve yanık hastalarında ⁹⁴ *S. boulardii*'nin diyareyi önlemesi, ülseratif kolitte etkili olabileceğı ⁹⁵, Crohn hastalığında semptomları kısmen azalttığı, özellikle ishalde etkili olduğı ⁹⁶ ve ratlarda hint yağı ile uyarılmış ishale karşı, *S. boulardii* tarafından üretilen nitrik oksit ile inhibisyonun etkili olduğı ⁹⁷ şeklinde özetlenebilir.

3.MATERYAL METOD

Bu çalışma, *S. boulardii*'nin, profilaktik olarak kullanımında *C. jejuni* kolonizasyonu önleyici, *C. jejuni* ile kolonize edilen ratlarda kolonizasyonu ortadan kaldırıcı etkisinin değerlendirilmesi amacıyla planlanmıştır.

Çalışmada, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen yaklaşık 300±20 gram ağırlığında, 8 aylık toplam 50 wistar rat kullanılmıştır.

Ratlar 5 gruba ayrılarak şu şekilde sınıflandırılmıştır:

| | | |
|--|---|--|
| I. grup (kontrol grubu) | : | Sadece fosfat buffer salin verilenler (10 rat) |
| II. grup (<i>S. boulardii</i> grubu) | : | Sadece <i>S. boulardii</i> verilenler (10 rat) |
| III. grup (<i>C. jejuni</i> grubu) | : | Sadece <i>C. jejuni</i> verilenler (10 rat) |
| IV. grup (kolonizasyon + <i>S. boulardii</i> grubu) | : | <i>C. jejuni</i> ile kolonize edilip <i>S. boulardii</i> verilenler (10 rat) |
| V. grup (profilaksi grubu) | : | Profilaksi uygulanıp, <i>C. jejuni</i> verilenler (10 rat) |

Ratların günlük yiyecekleri otoklavda sterillemiş, su olarak hazır içme suyu verilmiş, yiyecek ve içecek kısıtlaması yapılmamıştır. Çalışma öncesinde ratlardan dışkı örnekleri alınmış ve kültür ekimleri yapılarak *C. jejuni* açısından değerlendirilerek, kültür negatif olanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Deney süresinin sonunda ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulanmıştır.⁷

Deneysel çalışma

I. grup (kontrol grubu): Sadece 0.1 ml fosfat buffer salin (PBS, Phosphate buffered saline), 7 gün süreyle gavaj yoluyla verildi. 8.günde alınan dışkı örnekleri *Campylobacter*

Blood Free Selektif Medium(Modifiye CCDA-Preston, Oxoid CM 739) besiyerine ekilerek *Campylobacter* açısından değerlendirildi. Ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulandı; histopatolojik değerlendirme amacıyla jejenum, ileum ve kolon doku örnekleri alınarak %10 formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi. ⁷

II. grup (*S. boulardii* grubu): 7 gün süreyle rat başına 10 mg *S. boulardii* verildi. ⁹⁸ 8.günde alınan dışkı örnekleri; Sabouraud Dextroz Agar'a (SDA, HiMedia, M 063, India) ekilerek *Saccharomyes boulardii* açısından değerlendirildi. Ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulandı; histopatolojik değerlendirme amacıyla jejenum, ileum ve kolon doku örnekleri alınarak %10 formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

III. grup (*C. jejuni* grubu): *C. jejuni* [0.1 ml 1×10^8 cfu] tek doz olarak verildi. ⁹⁹ 7.günde alınan dışkı örnekleri *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium besiyerine ekilerek *C. jejuni* açısından değerlendirildi. Ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulandı; histopatolojik değerlendirme amacıyla jejenum, ileum ve kolon doku örnekleri alınarak %10 formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

IV. grup (kolonizasyon + *S. boulardii* grubu): Sıvı Brain Heart infüzyon buyyonunda 37° C'de 12 saat bekletilmiş *C. jejuni* [0.1 ml 1×10^8 cfu] tek doz olarak verildi. 7.günde ratlardan alınan dışkı örnekleri *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium besiyerine ekim yapılarak *C. jejuni* açısından değerlendirildi. Daha sonra 7 gün boyunca rat başına 10 mg *S. boulardii* verildi. Uygulamanın 8.gününde alınan dışkı örnekleri SDA'ya ekilerek *Saccharomyes boulardii* ve *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium besiyerine ekilerek *C. jejuni* açısından değerlendirildi. Ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulandı; histopatolojik değerlendirme amacıyla jejenum, ileum ve kolon doku örnekleri alınarak %10 formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

V. grup (profilaksi grubu): *S. boulardii* 7 gün süreyle rat başına 10 mg verildikten sonra, alınan dışkı örnekleri SDA'ya ekilerek *S. boulardii* açısından değerlendirildi ve 8. gün tek doz [0.1 ml 1×10^8 cfu] *C. jejuni* verildi. *C. jejuni* verilmesini takip eden 7. gün alınan dışkı örnekleri SDA'ya *S. boulardii* ve *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium besiyerine *C. jejuni* açısından değerlendirilmek üzere ekildi. Ratlara yüksek doz eter ile ötenazi uygulandı; histopatolojik değerlendirme amacıyla jejenum, ileum ve kolon doku örnekleri alınarak %10 formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

***C. jejuni* verilme tekniği**

III., IV. ve V. gruplara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü Kùltür Koleksiyonları'ndan temin edilen sıvı Brain Heart infüzyon buyyonunda 37° C'de 12 saat bekletilmiş, 1×10^8 koloni içeren *C. jejuni* süspansiyonu (ATCC 33292 suşu) 0.1 ml (100µg) miktarda , 18 G'lik iğne enjektör yardımıyla gavaj şeklinde uygulanmıştır.

Campylobacter Blood Free Selektif Medium besiyerinin hazırlanışı

22.75 g *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium (Modifiye CCDA-Preston, Oxoid CM 739), 500 ml distile suda kaynatılarak eritildi ve 1.5 atmosfer basınçta 121°C'de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi. Hazır sefaperazon supplement, 2 ml steril distile suda iyice eritilip, besiyeri 45–50°C'ye kadar soğduktan sonra besiyerine karıştırıldı. Steril petri plaklarına uygun miktarlarda dağıtılarak 24 saat 37°C'lik etüvde sterilite kontrolleri yapıldıktan sonra +4°C'de buzdolabında kullanılıncaya kadar saklandı.

Cefaperazon Selektif Supplement (Oxoid SR 125)

16 mg Cefaperazon/500 ml besiyeri

Campylobacter Blood Free Selektif Medium (Modifiye CCDA-Preston) (Oxoid CM 739)

| | | |
|----------|--------------------------|----------|
| İçeriği: | Nutrient broth No:2 | 25.0 g/l |
| | Bacteriological charcoal | 4.0 g/l |
| | Casein hydrolysis | 3.0 g/l |
| | Sodium desoxycholate | 1.0 g/l |
| | Ferrous sulphate | 0.25 g/l |
| | Sodium pyruvate | 0.25 g/l |
| | Agar | 12.0 g/l |
| | pH:7.4± 0.2 | |

***Campylobacter jejuni* izolasyonu**

Mikrobiyolojik değerlendirme amacıyla, alınan dışkı örnekleri steril bir tüp içerisinde % 0.9 NaCl solüsyonu ile homojenize edildikten sonra 0.01 ml çaplı özelerle *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium besiyerine ekildi. 42° C'lik etüvde, anaerobik jarda, (CampyGen 2.5 litre, Oxoid, UK), mikroaerofilik ortam sağlanarak 48 saat inkübe edildikten sonra üreyen bakteriler Gram boyama yöntemi, katalaz ve oksidaz testleri ile tanımlanmıştır (Şekil-3).



Şekil-3. *C. jejuni*'nin Blood Free Selektif Medium besiyerinde ve Gram boyamadaki görünümü

***Saccharomyces boulardii*'nin verilme tekniği**

II. IV. ve V. gruplara 0.1 ml PBS içerisinde süspansiyon haline getirilmiş 10 mg Liyofilize *S. boulardii* (Reflor saşe® 282.5 mg, Sanofi-Aventis, İstanbul, Türkiye) günlük olarak intragastrik ya da 18G'lik iğne enjektör yardımıyla gavaj şeklinde verildi. ¹⁰⁰

Sabouraud Dextroz Agar besiyerinin hazırlanışı

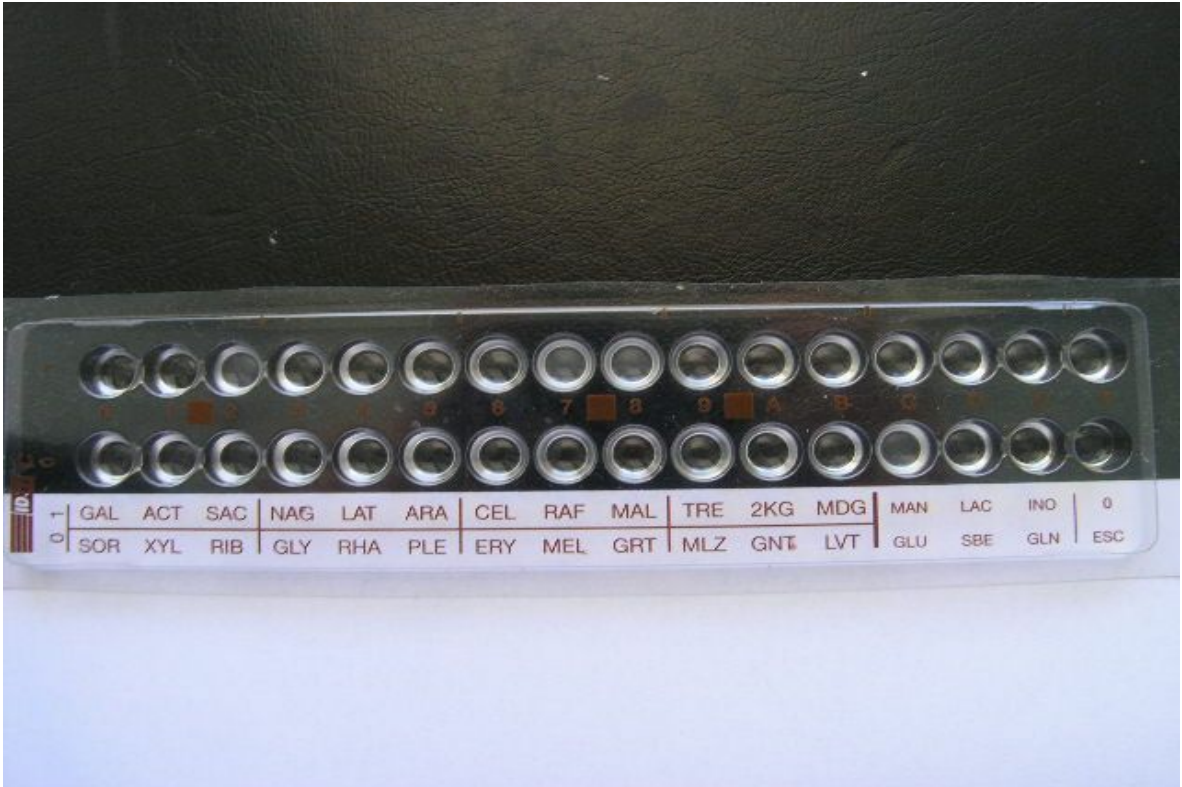
65 g Sabouraud Dextroz Agar 1000 ml distile suda kaynatılarak eritildi ve 1.5 atmosfer basınçta 121°C'de 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi. Steril petri plaklarına uygun miktarlarda dağıtılarak 24 saat 37°C'lik etüvde sterilite kontrolleri yapıldıktan sonra +4°C'de buzdolabında kullanılıncaya kadar saklandı.

Sabouraud Dextroz Agar (SDA, HiMedia, M 063, India)

| | | |
|----------|---------------------|------------|
| İçeriği: | Mycological peptone | 10.00 g/lt |
| | Dextrose | 40.00 g/lt |
| | Agar | 15.00 g/lt |
| | pH (25° C): | 5.6± 0.2 |

Saccharomyces boulardii izolasyonu

Mikrobiyolojik değerlendirme amacıyla dışkı örnekleri steril bir tüp içerisinde % 0.9 NaCl solüsyonu ile homojenize edildikten sonra 0.01 ml çaplı özelerle SDA besiyerine ekildi. 37° C'lik etüvde 48 saat inkübe edildikten sonra üreyen bakteriler Gram boyama yöntemi ve ID CAUX (bioMerieux, Fransa) sistemi ile tanımlandı (Şekil-4).¹⁰¹



Şekil-4. Biyokimyasal otomatize sistemlerden ID CAUX ile *S. boulardii* izolatının tanımlanması

Histopatolojik inceleme

Ratların karın bölgesi temizliği yapıldıktan sonra steril bir şekilde batın açılarak, histopatolojik değerlendirme amacıyla jejunum, ileum ve kolondan doku örnekleri alınarak %10'luk formalin içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Örneklerin 3–4 µm kalınlığında hazırlanan kesitleri hematoxylin&eosin ile boyanarak, ışık mikroskopunda 10–40 büyütme ile değerlendirildi. Jejunum, ileum ve kolonda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser oluşumu değerleri 0 – 3 arası bir skala ile derecelendirildi.⁵⁰

Mikroskopik incelemede, %0–25 arası değişiklikler için (normal doku) 0, %25–50 arası değişiklikler için 1, %50–75 arası değişiklikler için 2, %75–100 arası değişiklikler için ise 3 olarak derecelendirilme yapıldı. Daha sonra meydana gelen bu değişiklikler her grup ve doku için ayrı ayrı toplanarak total skorlar hesaplandı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler Windows için SPSS 11.0 yazılımı ile yapıldı. Jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerlerini tüm gruplar arasında karşılaştırmak için Kruskal-Wallis testi ve gruplar-arası karşılaştırmak amacıyla ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi.

Hayvan modeli olarak planlanan bu tez çalışması için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Alt Kurulu'ndan onay alınmıştır (21.09.2007 tarih ve 100/36 sayı).

4. BULGULAR

4.1.Mikrobiyolojik bulgular

Çalışma gruplarına ait dışkı kültürü sonuçları Tablo 8-12’de gösterilmiştir.

Grup I’de (kontrol grubu) yer alan ratların hiçbirinin dışkı kültüründe *C. jejuni* tespit edilmemiştir (Tablo- 8).

Tablo–8. Grup I’de (sadece fosfat buffer salin verilenler) *C. jejuni* izolasyon sonuçları

| Rat no | <i>C. jejuni</i> |
|--------|------------------|
| 1 | - |
| 2 | - |
| 3 | - |
| 4 | - |
| 5 | - |
| 6 | - |
| 7 | - |
| 8 | - |
| 9 | - |
| 10 | - |

Grup II'de (*S. boulardii* grubu) bulunan ratların tamamının dışkı kültürlerinde *S. boulardii* üremiştir (Tablo-9).

Tablo-9. Grup II'de (sadece *S. boulardii* verilenler) *S. boulardii* izolasyon sonuçları

| Rat no | <i>S. boulardii</i> |
|--------|---------------------|
| 1 | + |
| 2 | + |
| 3 | + |
| 4 | + |
| 5 | + |
| 6 | + |
| 7 | + |
| 8 | + |
| 9 | + |
| 10 | + |

Grup III'de (*C. jejuni* grubu) yer alan ratların tümünün dışkı kültürlerinde *C. jejuni* üremiştir (Tablo-10).

Tablo-10. Grup III'de (sadece *C. jejuni* verilenler) *C. jejuni* izolasyon sonuçları

| Rat no | <i>C. jejuni</i> |
|--------|------------------|
| 1 | + |
| 2 | + |
| 3 | + |
| 4 | + |
| 5 | + |
| 6 | + |
| 7 | + |
| 8 | + |
| 9 | + |
| 10 | + |

Grup IV’de (kolonizasyon + *S. bouldardii* grubu) *C. jejuni* ile ratlar infekte edildikten sonra 7. günde alınan dışkı örneklerinin kültüründe, tüm ratlara ait örneklerde *C. jejuni* tespit edilmiş ve 7 gün *S. bouldardii* uygulandıktan sonra 8.günde alınan örneklerin tümünde *S. bouldardii* üremiş, ancak *C. jejuni* tespit edilmemiştir (Tablo–11).

Tablo–11. Grup IV’de (*C. jejuni* ile kolonize edilip *S. bouldardii* verilenler) *S. bouldardii* ve *C. jejuni* izolasyon sonuçları

| Rat no | <i>S. bouldardii</i> | <i>C. jejuni</i> |
|--------|----------------------|------------------|
| 1 | + | - |
| 2 | + | - |
| 3 | + | - |
| 4 | + | - |
| 5 | + | - |
| 6 | + | - |
| 7 | + | - |
| 8 | + | - |
| 9 | + | - |
| 10 | + | - |

Grup V’de (profilaksi grubu) *S. bouldardii* ile ratlara 7 gün profilaksi uygulandıktan sonra alınan dışkı örneklerinde, tüm ratlarda *S. bouldardii* tespit edilmiş, 8. gün tek doz *C. jejuni* verilmiş ve takip eden 7. günde dışkı kültürlerinde örneklerin tümünde *S. bouldardii* üremiş, *C. jejuni* tespit edilmemiştir (Tablo–12).

Tablo–12. Grup V’de (*S. boulardii* ile profilaksi uygulanıp *C. jejuni* verilenler) *S. boulardii* ve *C. jejuni* izolasyon sonuçları

| Rat no | <i>S. boulardii</i> | <i>C. jejuni</i> |
|--------|---------------------|------------------|
| 1 | + | - |
| 2 | + | - |
| 3 | + | - |
| 4 | + | - |
| 5 | + | - |
| 6 | + | - |
| 7 | + | - |
| 8 | + | - |
| 9 | + | - |
| 10 | + | - |

4.2.Histopatolojik bulgular

Histopatolojik inceleme sonucunda dokularda izlenen histopatolojik değişikliklere ait sonuçlar Tablo 13-17’de, patolojik doku değişikliği örnekleri Şekil 5-10’da, gösterilmiştir

Tablo–13. Grup I'deki (sadece fosfat buffer salin verilenler) ratların jejunum, ileum ve kolonlarında meydana gelen patolojik değişiklikler (0–3 arası skora ile)

| Rat No | JEJENUM | | İLEUM | | KOLON | |
|--------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Toplam | 3 | 0 | 6 | 0 | 7 | 0 |

Tablo–14. Grup II'deki (sadece *S. boulardii* verilenler) ratların jejunum, ileum ve kolonlarında meydana gelen patolojik değişiklikler (0–3 arası skora ile)

| Rat No | JEJENUM | | İLEUM | | KOLON | |
|--------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Toplam | 2 | 0 | 6 | 0 | 10 | 0 |

Tablo–15. Grup III’deki (sadece *C. jejuni* verilen) ratların jejunum, ileum ve kolonlarında meydana gelen patolojik değişiklikler (0–3 arası skorlama ile)

| Rat No | JEJENUM | | İLEUM | | KOLON | |
|--------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| 9 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 10 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 | 2 |
| Toplam | 5 | 3 | 18 | 8 | 16 | 2 |

Tablo–16. Grup IV’deki (*C. jejuni* ile kolonize edilip *S. boulardii* verilenler) ratların jejunum, ileum ve kolonlarında meydana gelen patolojik değişiklikler (0–3 arası skorlama ile)

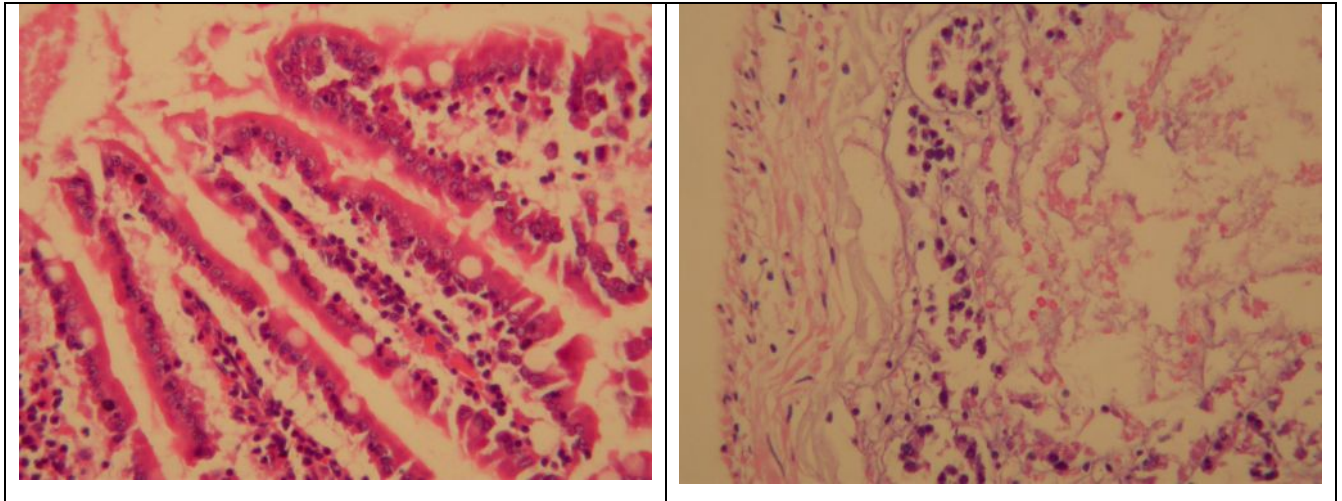
| Rat No | JEJENUM | | İLEUM | | KOLON | |
|--------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| 10 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Toplam | 4 | 0 | 6 | 4 | 11 | 1 |

Tablo–17. Grup V’deki (*S. boulardii* ile profilaksi uygulanıp *C. jejuni* verilenler) ratların jejunum, ileum ve kolonlarında meydana gelen patolojik değişiklikler (0–3 arası skorlama ile)

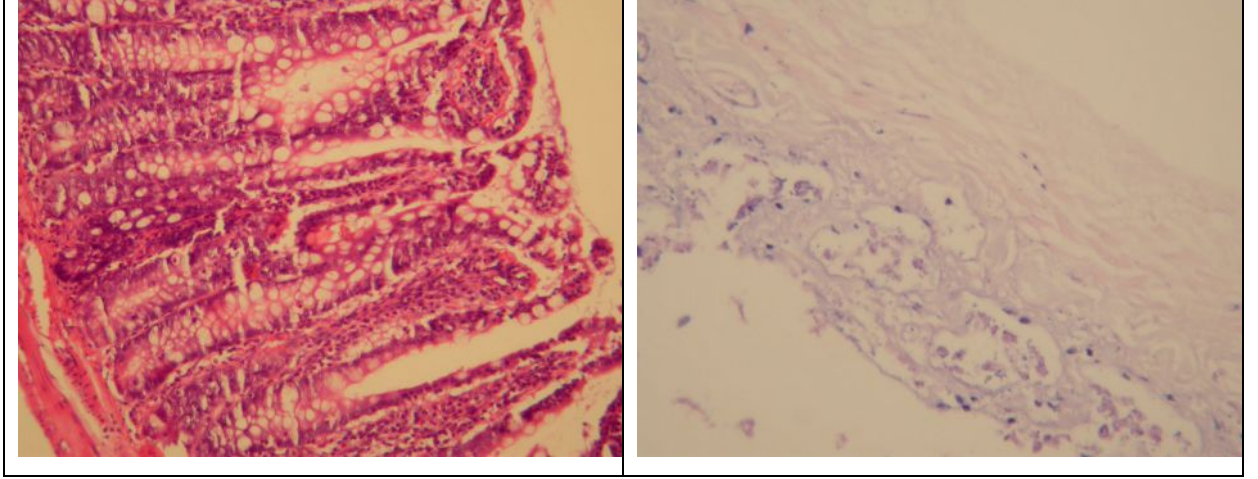
| Rat No | JEJENUM | | İLEUM | | KOLON | |
|--------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser | Lamina Propria İnflamasyonu | Mukozal Ülser |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 4 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 |
| Toplam | 2 | 1 | 7 | 5 | 15 | 0 |

Histopatolojik inceleme sonucunda dokularda izlenen patolojik değişikliklere ait örnekler:

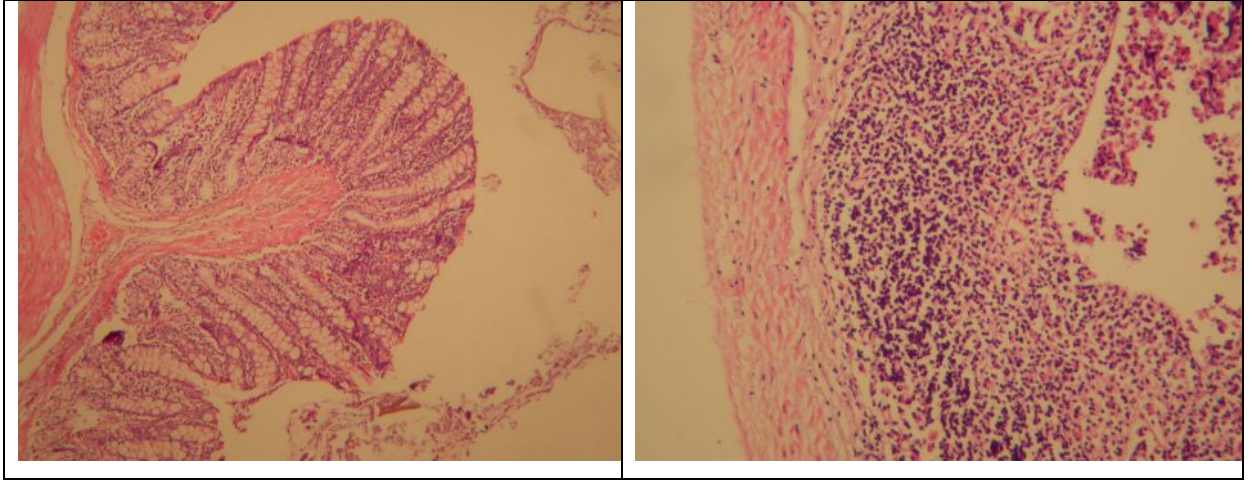
Mukozal ülser



Şekil–5. Jejunumda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup I, olgu no 3 (skor 0) ve grup III, olgu no 29 (skor 2)]

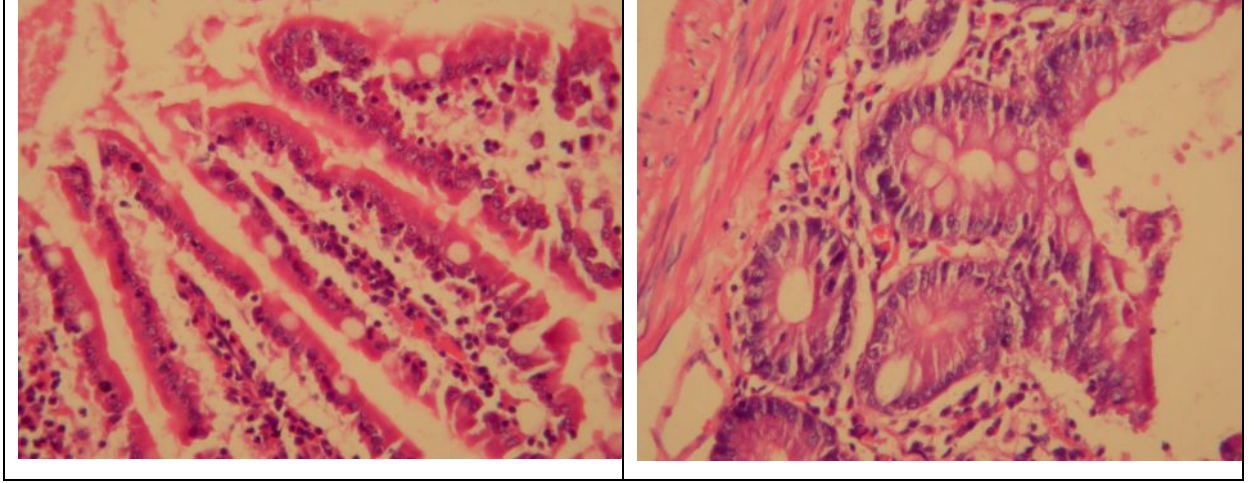


Şekil-6. İleumda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup II, olgu no 14 (skor 0) ve grup V, olgu no 47 (skor 3)]

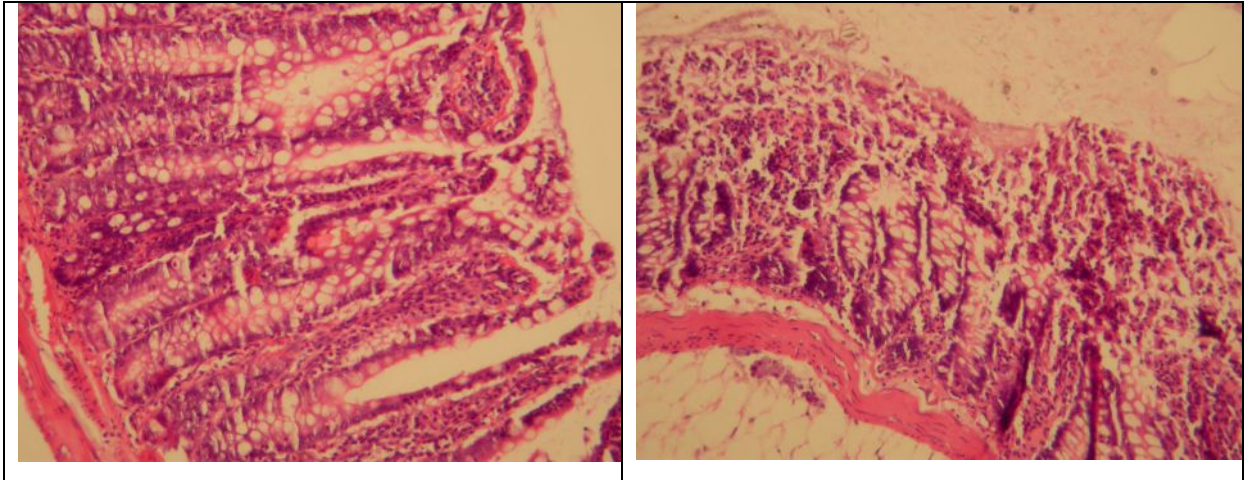


Şekil-7. Kolonda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup V, olgu no 49 (skor 0) ve grup III, olgu no 29 (skor 2)]

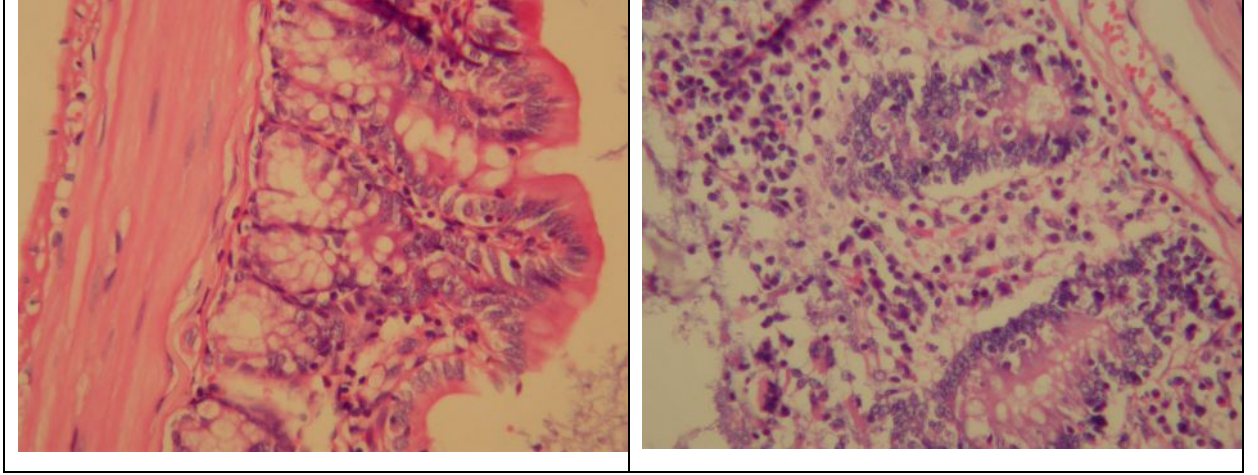
Lamina propria inflamasyonu



Şekil-8. Jejenumda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup IV, olgu no 36 (skor 0) ve grup IV, olgu no 32 (skor 1)]



Şekil-9. İleumda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup II, olgu no 14 (skor 0) ve grup III, olgu no 28 (skor 3)]



Şekil-10. Kolonda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Grup II, Olgu no 16 (skor 0) ve grup III, olgu no 30 (skor 3)]

4.3.İstatistiksel değerlendirme

Histolojik değerlendirmeler

Jejunum, ileum ve kolonda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser değerleri

– Tüm grupların istatistiksel sonuçları (KW testi)

İleumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı. (sırasıyla; $p = 0,005$, $x^2 = 14,665$; $p = 0,031$, $x^2 = 10,613$; $p = 0,035$, $x^2 = 10,373$)

Jejunumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Jejunum, ileum ve kolonda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser değerleri – gruplar-arası istatistiksel sonuçlar (MWU testi)

I. ve II. gruplar arasında jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 13, 14.

I. ve III. gruplar arasında ileumda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser; kolonda, lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$), Tablo 13, 15.

I. ve IV. gruplar arasında jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 13, 16.

I. ve V. gruplar arasında kolonda, lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanırken ($p<0.05$), jejunum ve ileumda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda ise mukozal ülser değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 13, 17.

II. ve III. gruplar arasında ileumda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$), Tablo 14, 15.

II. ve IV. gruplar arasında jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 14, 16.

II. ve V. gruplar arasında jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 14, 17.

III. ve IV. gruplar arasında ileumda, lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$), Tablo 15, 16.

III. ve V. gruplar arasında ileumda, lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$), Tablo 15, 17.

IV. ve V. gruplar arasında jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$), Tablo 16, 17.

Grupların istatistiksel açıdan karşılaştırılmaları Tablo-18’de ve jejenum, ileum ve kolonda meydana gelen patolojik değişiklikler ve bu parametrelerin gruplara göre, ortanca (median) ve aralık değerleri ise Tablo-19’da gösterilmiştir.

Tablo–18. Dokularda saptanan histopatolojik bulgulara göre grupların istatistiksel açıdan karşılaştırılmaları [I. grup (kontrol grubu), II. grup (*S. boulardii* grubu), III. grup (*C. jejuni* grubu), IV. grup (kolonizasyon+*S. boulardii* grubu), V. grup (profilaksi grubu)]

| DOKU | PATOLOJİK BULGU | GRUPLAR | | | | | | | | | |
|---------|-----------------------------|---------|-------|------|-----|--------|-------|------|--------|-------|------|
| | | I-II | I-III | I-IV | I-V | II-III | II-IV | II-V | III-IV | III-V | IV-V |
| JEJENUM | Lamina propria inflamasyonu | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Mukozal ülser</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| İLEUM | Lamina propria inflamasyonu | - | + | - | - | + | - | - | + | + | - |
| | <i>Mukozal ülser</i> | - | + | - | - | + | - | - | - | - | - |
| KOLON | Lamina propria inflamasyonu | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Mukozal ülser</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

(+); istatistiksel açıdan anlamlı farklılık, $p < 0.05$, (-); istatistiksel açıdan anlamlı olmayan farklılık, $p > 0.05$

Tablo-19. Ratlarda; jejunum, ileum ve kolonda meydana gelen patolojik değişiklikler ve bu parametrelerin gruplara göre, ortanca (median) ve aralık değerleri

| | | GRUPLAR | | | | |
|----------------|------------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| | | GRUP I (n=10) | GRUP II (n=10) | GRUP III (n=10) | GRUP IV (n=10) | GRUP V (n=10) |
| JEJENUM | Lamina propria inflamasyonu | 0,00 (0-1) | 0,00 (0-1) | 0,5 (0-1) | 0,00 (0-1) | 0,00 (0-1) |
| | <i>Mukozal ülser</i> | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-2) | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-1) |
| İLEUM | Lamina propria inflamasyonu | 0,00 (0-2) | 1,00 (0-1) | 200 (1-3) | 0.50 (0-2) | 0.50 (0-2) |
| | <i>Mukozal ülser</i> | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-0) | 0,5 (0-3) | 0,00 (0-3) | 0,00 (0-2) |
| KOLON | Lamina propria inflamasyonu | 1,00 (0-1) | 1,00 (0-1) | 1,5 (0-3) | 1,00 (0-2) | 1,00 (1-3) |
| | <i>Mukozal ülser</i> | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-0) | 0,00 (0-2) | 0,00 (0-1) | 0,00 (0-0) |

5.TARTIŞMA

Akut infeksiyöz diyare yılda yaklaşık iki milyon ölüme sebep olan dünya çapında bir problemdir. *Campylobacter* türleri diyarenin en sık bakteriyel etkenlerinden olup, süt çocukluğu döneminde sıklıkla ölüme neden olur.^{24,102,103,104,105,106} İnsanlardaki infektif dozu tam olarak bilinmemekle beraber, 1000 mikroorganizmanın hastalık meydana getirebileceği bildirilmiştir.¹⁰⁷

Campylobacter infeksiyonlarının tüm dünyada genel olarak insidansı %1–35 arasında değişmekte, Türkiye’de ise %1–13 olarak bildirilmektedir. Ülkemizde ishallerde *Campylobacter* aranması henüz rutin uygulamada olmamakla birlikte, yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde *Campylobacter* izolasyonunun *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerle kıyaslanabilir oranda olduğu görülmektedir. Türkiye’de hastalık tüm yıl boyunca görülmesine rağmen yaz mevsiminde belirgin olarak artmaktadır. *Campylobacter* infeksiyonları genellikle kendini sınırlayan bir hastalık olarak düşünülmesine rağmen, özellikle immün sistemi baskılanmış, immunoglobulin eksiklikleri olan hastalarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır.⁴

Son yıllarda, infeksiyöz diyarelerin patogenezinin anlaşılması ve tedavisinde oldukça önemli gelişmeler ortaya çıkmıştır. Diyareye bağlı morbidite ve mortaliteyi önlemek amacıyla tedavide, oral rehidratasyon sıvıları, antibiyotikler, antidiyareik ilaçlar ve destek ilaçları kullanılmaktadır. Bu ilaçların bir kısmının zaman içinde bir takım önemli yan etkileri ortaya çıkmıştır.⁵³ *Campylobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarını araştıran çalışmalarda, tedavide kullanılan kinolon grubu ilaçlara karşı yüksek oranda direnç geliştiği bildirilmektedir.⁴

Campylobacter infeksiyonlarının yaygınlığı, önemi ve tedavi sorunları göz önüne alındığında, bu etkene bağlı olarak gelişebilecek infeksiyonların önlenmesi ve kolonizasyon/infeksiyon gerçekleştiği takdirde etkenin ortadan kaldırılması konusu önem kazanmaktadır. Bu amaçla çalışmamızda, sağlıklı konağın bağırsağında mikroflora üzerinde belirgin bir etki meydana getirmeyen, genellikle transloke olmayan ve diğer türlere direnç geni aktarmayan bir maya olan *S. bouvardii*'nin *C. jejuni* kolonizasyonu üzerine etkisi araştırıldı.

İnsan *Campylobacter* infeksiyonlarının önemli bir kısmı, az pişmiş veya pişmemiş tavuk eti ile kontamine olan yiyeceklerden kaynaklanır. ^{103,106} *Campylobacter* türleri; *Salmonella* ve patojenik *E.coli* ile birlikte vahşi ve evcil (özellikle yiyecek olarak yetiştirilen) hayvanların büyük bir bölümünün gastrointestinal sisteminde kolonize olurlar. Bu patojenlerle yiyeceklerin kontaminasyonu, üretim, işleme, dağıtım, satış, pişirme için hazırlama gibi besin zincirinin pek çok adımında olabilir. ³

Hayvanlarda bağırsak kolonizasyonu ve dışkı ile patojenik bakterilerin atılması hem insan gıda güvenliği hem de hayvan sağlığı açısından önemli olduğundan, kümes hayvanlarının *Campylobacter* türleri ile kolonizasyonu konusunda yapılmış olan birçok çalışma bulunmaktadır. ^{103,106,108,109,110}

Campylobacterlerin hastalık oluşturma mekanizması bir seri kompleks aşama ile meydana gelir. Bunlar motilite ve tropizme ileum ile kolona ulaşma ^{103,111}, bağırsak epitel hücrelerine yapışma ve invazyon ^{102,111,112,113}, enterotoksin ve sitotoksin üretimi ¹⁰², CmeABC multidrug efflux sistemi ile safra direncinin sağlanması ¹¹⁴, kemotaksis ¹¹¹, CDT üretimi ¹⁰⁴ ve N-linked protein glikozilasyon yolu (Pgl) ¹¹¹'dur. Bunlardan epitel hücrelerine yapışma ve invazyon *Campylobacter* patogenezi için esansiyeldir. Bakterinin konak hücre yüzey komponentlerine bağlanması ve konak hücre yüzey reseptörleri *Campylobacter*' de; *Shigella*, *Yersinia* ve *Salmonella* türlerinde olduğu gibi tam olarak tanımlanmamış olduğundan, bu konuda birçok araştırma yapılmaktadır ^{6,102,113,115} Karlyshev ve ark. ¹¹², glikoproteinlerin de *C. jejuni* patogeneziinde rol sahibi olduklarını ortaya koymuşlar, Kakuda ve DiRita ¹¹¹, ise çalışmalarında glikoprotein üreten bir gen olarak Cj1496c'yi tanımlamışlardır. Sonuç olarak bu araştırmacılar, glikoproteinlerin *Campylobacter* kolonizasyonunu önlemede ve hastalığın tedavisinde önemli bir hedef olacağı fikrini iddia etmektedirler.

C. jejuni 'nin kümes hayvanları dışındaki hayvanların bağırsaklarında kolonizasyonunu inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde, Blaser ve ark. ¹¹⁶, farelerde oral yolla 10^8 cfu *C. jejuni* uygulayarak deneysel *Campylobacter* infeksiyonu oluşturmuşlar, farelerin tamamında infeksiyon meydana gelmiş ve ince bağırsakta 48 saat sonra insan infeksiyonlarındakine benzer epitel inflamasyonu gözlenmiştir. Yazarlar, ana hedef organın farelerde ince bağırsak olduğunu, insanlarda ise ince ve kalın bağırsak farklılığı olup olmadığının bilinmediğini belirtmişlerdir.

Aynı konuda araştırmalar yapan Chang ve Miller ⁷, *C. jejuni*'nin insanlarda ince bağırsağın distalini ve kolonu kolonize ettiğini, çeşitli derecelerde mukozal inflamasyon; nötrofilik infiltrasyon, kript apseleri ve yamalı ülserasyon meydana getirdiğini iddia etmiş, etkili, tekrar edilebilir, yüksek-seviye kolonizasyon elde edilen bir deneysel murin *Campylobacter* infeksiyon modeli geliştirmişlerdir (C3H fare, sınırlı bağırsak florası, 10^8 cfu/g dışkı). ⁷

Epoke ve Coker ¹⁰¹, 10^6 – 10^8 cfu/ml *C. jejuni*'nin oral uygulanması sonrasında ratların tamamında kolonizasyon elde ettiklerini, hiçbirinde klinik diyare görülmediğini ve 4 ay boyunca dışkı örneklerinden *C. jejuni* izolasyonunun devam ettiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da 0.1 ml 1×10^8 cfu bakteri inoküle edilen grup III ve grup IV'de ratların tamamında *C. jejuni* kolonizasyonu sağlanmıştır.

Tavuklarda *C. jejuni* ile bağırsak kolonizasyonunu önlemede çeşitli ajanlar denenmiştir. Bunlardan, bizmut sitrat ve kolloidal bizmut subsitrat ¹¹⁷ ve bakteriyofaj tedavisi ¹¹⁸ ile çekumda *Campylobacter* kolonizasyonunda azalma elde edilmiştir. Bir başka çalışmada da Farnell ve ark. ¹¹⁹, *Campylobacter* ile kolonize edilen tavuklara *Bacillus circulans* ve *Paenibacillus polymyxa* tarafından üretilen pürifiye, mikroenkapsüle bakteriyosinlerle tedavi uygulamış ve 3 gün sonunda çekum *Campylobacter* konsantrasyonlarının ($<1 \times 10^2$ cfu/g çekal muhteva) azaldığını; histolojik incelemede de duodenal kript derinliği ile goblet hücre sayısının azaldığını bildirmişlerdir. Yazarlar bunun ya bakteriyosidal veya bakteriyostatik mekanizma ile ya da *Campylobacter* kolonizasyon bölgelerinde fiziksel veya fonksiyonel değişiklikler yoluyla olduğunu öne sürmüşlerdir. Kript derinliğindeki azalmanın lümende daha fazla kalınması ile gıda ve kimyasal çevrede değişiklikler (örnek; artmış oksijen basıncı) yoluyla *Campylobacter* üreme ve kolonizasyonunu sınırlandırabileceği sonucuna varılmıştır. Müsin glikoproteinleri salgılayan goblet hücrelerindeki azalmanın da, müsin besin kaynağı

olarak kullanan *Campylobacter* kolonizasyonunu sınırlayabileceği düşünülmüştür. *Campylobacter* konsantrasyonundaki azalmanın da çok önemli olduğunu belirten araştırmacılar, 2-log azalmanın insan *Campylobacter* insidansında 30 kat azalma meydana getireceğini iddia etmişlerdir.

Line ve ark.¹²⁰, çalışmalarında taşıma stresine maruz bırakılan tavuklarda *Salmonella* ve *Campylobacter* popülasyonunu azaltmada *S. bouldarii*'nin etkinliğini araştırmışlardır. *Salmonella* ve *Campylobacter* ile inoküle edilen tavuklar 6 hafta sonra iki gruba ayrılarak; birinci gruba 2.5 gün %10 kurutulmuş maya yem ile birlikte verilmiş, sonuç olarak; tedavi verilmeyen grupta *Salmonella* kolonizasyonu %3.3'den %16.7'ye yükselirken tedavi grubunda hiç izolasyon olmadığı, tedavi ile kolondan *Campylobacter* izolasyon sıklığı etkilenmezken, kolondaki *Campylobacter* popülasyonunda önemli oranda (15 kat/ 250 milyon hücre) düşme saptanmıştır. Yazarlar, kesim öncesi son bir haftada kümes hayvanlarına *S. bouldarii*-katılmış yem verilmesini önermektedirler.

Aynı yazarlar bir yıl sonra yaptıkları bir çalışmada¹²¹, üç grup oluşturarak 1 kg yeme, birinci grupta 1g, ikinci grupta 100 g kuru *S. bouldarii* eklemişlerdir. 4.gün *S. typhimurium* ve *C. jejuni* ile kolonize edilen tavukların çekumları 3 hafta sonra incelenmiştir. *S. bouldarii* verilenlerde *Salmonella* kolonizasyon sıklığında ciddi azalma olurken, daha önceki çalışmalarının aksine *Campylobacter*'de değişiklik olmamıştır.

Çalışmamızda, profilaktik olarak *S. bouldarii* verilen grupta (V. grup) ratlara 7 gün profilaksi uygulandıktan sonra alınan dışkı kültürlerinde tüm ratlarda *S. bouldarii* tespit edilmiş, 8. gün tek doz *C. jejuni* verilmiş ve takip eden 7. günde dışkı kültürlerinde *S. bouldarii* üremiş, *C. jejuni* tespit edilmemiştir (Tablo-12). Bu bulgular, *S. bouldarii* ile profilaksinin ratların tamamında *C. jejuni* kolonizasyonunu önlediğini göstermektedir. Histopatolojik değerlendirmelerimiz de mikrobiyolojik verileri desteklemektedir.

Campylobacter infeksiyonlarının tedavisinde, makrolidler ve florokinolonlar sıklıkla kullanılmakla birlikte, florokinolonlara direnç giderek artmaktadır.^{122,123} Bu artan direncin nedeninin hayvanlarda giderek artan bir şekilde kullanılan kinolonlar olduğu iddia edilmiştir.¹³² Van Looveren ve ark.¹²⁴, kümes hayvanlarından izole edilen *Campylobacter* suşlarında in vitro eritromisin direncinin %67.2 ve siprofloksasin direncinin ise %62.1 olduğunu bildirmişlerdir. Gaudreau ve Gilbert¹²², ise direnç oranlarını, eritromisinde %1-12,

tetrasiklinde %43–68 ve siprofloksasinde ise %10–47 olarak tespit etmişlerdir. Senok ve ark.¹²⁵ ise, insanlarda eritromisin direncini 2/117 (%1.7), siprofloksasin direncini >%80 olarak bildirmişlerdir.

Rutin dışı kültürlerde *Campylobacter* izolasyonu sıklığı ve antibiyotik duyarlılıklarını araştıran Öngen ve ark.⁴, 6835 hastaya ait dışkı örneğinde toplam 82 (%1.2) *Campylobacter* cinsi bakteri izole etmişler ve bunların % 84'ünü *C. jejuni* olarak tanımlamışlardır. Tüm suşların amoksisilin-klavulanik asit, sefepim, eritromisin, klaritromisin, azitromisin, amikasin, gentamisin ve netilmisine duyarlı olduğunu ve %59'unun kinolonlara dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, az miktarda da olsa *Campylobacter* türlerinde antimikrobiyallere direnç saptanması, tedavi amaçlı yeni ajanların denemesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu nedenle çalışmamızda ratlar *C. jejuni* ile kolonize edildikten sonra *S. boulardii*'nin kolonizasyonu ortadan kaldırıcı etkisi araştırılmıştır. Bu değerlendirmeler sonucunda, III.grup ile IV.grup arasında ileumda lamina propria inflamasyonu değerleri bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur (Tablo-18). Bu bulgular, *S. boulardii* 'nin *C. jejuni* ile kolonize ratlarda etkili olduğunu ortaya koymaktadır. IV.grup ile V.grup arasında histopatolojik değerlendirmeler bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmaması da, *S. boulardii* 'nin kolonizasyon öncesi ve sonrası uygulamada histopatolojik parametreler üzerinde eşit düzeyde etkili olduğunu göstermiştir.

Canlılarda, bağırsak florası içinde bulunduğu bağırsak ile çok yakın ilişki içindedir ve bir ekosistem oluşturur. Bu ekosistemin dengesi insan sağlığını yakından ilgilendirir. Gastrointestinal sistemin yapısı, motilitesi, fiziksel ve kimyasal özellikleri, mukozanın metabolik ve enzim aktivitesi ile bağışıklık sisteminin gelişimini etkiler.⁵³ Daha da önemli olarak bağırsak florası gastrointestinal sistemin patojenik mikroorganizmalar ile kolonizasyonuna çok ciddi bir direnç gösterir. İnfeksiyöz diyare, kolit, antibiyotiğe-bağlı diyare gibi çeşitli faktörlerin sonucunda bağırsağın kompleks ekosistemi bozulur.

İnsan dışkı örneklerinin kültür-bağımsız PCR protokolleri ile incelenmesi sonucunda bağırsak florasının, insanları bazı hastalıklardan (astım, allerji, kronik enflamatuvar bağırsak hastalığı gibi) koruduğunu bildiren çalışmalar yayınlanmaktadır. Ayrıca 16S rRNA-gen-hedefli grup-spesifik primerler ve terminal sınırlayıcı fragman uzunluk polimorfizm

kullanılarak bakteri izolasyonu ve identifikasyonu da yapılabilmektedir. ⁶⁶ Böylece uzun süren kültür teknikleri olmadan bağırsak mikroflorasının yapısı ve dinamikleri incelenebilmektedir.

Bağırsak mikrobiyal fonksiyonunu iyileştirdiği hakkında bilgi sahibi olunan bakteri aktivitesinin, modülasyonu uzun bir geçmişe sahiptir. ⁵³ Bağırsak flora kompozisyonunun etkilemenin en sık kullanılan metodunun probiyotikler yolu ile olduğu anlaşılmıştır. Probiyotik, patojen mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen infeksiyonları önleyerek veya tedavi ederek konağın sağlığını iyileştirmede kullanılan canlı bir mikroorganizmadır. ¹¹

Preklinik ve deneysel çalışmalar termofilik, toksik-olmayan bir mantar olan *S. boulardii*'nin antiinflamatuvar, antimikrobiyal, enzimatik, metabolik ve antitoksin aktiviteleri olduğunu göstermiştir. ⁵³ *S. boulardii*, bazı bakteriyel toksinleri nötralize eden bir 54-KDa proteaz salgılar, bağırsak mukozasında immün cevabı stimüle eder. Mukozanın metabolik fonksiyonunu arttırarak trofik etki gösterir. Maya hücreleri, prokaryotik ve ökaryotik hücreler gibi DNA ve protein sentezinde, hücresel bölünmedeki ihtiyaçları doğrultusunda düzenlenen miktarda poliaminler salarak kolonik mukozanın enzimatik aktivitesini uyarırlar. ¹²⁶ Artmış psödohifsel değişim yeteneği ve asit pH'da canlılığını daha iyi devam ettirmesinin probiyotik etkisinin temelini oluşturduğu da bildirilmiştir. ⁵¹

S. boulardii'nin bağırsaklardaki olumlu etkilerinin mekanizması konusunda öne sürülen görüşler; bakteriyel toksinler tarafından uyarılan bağırsak sekresyonu üzerinde inhibitör etki ¹²⁷, bağırsaklardan Ig salınımının uyarılması ⁴⁹, bağırsak hücrelerinden fırça kenar membran enzimlerinin salınımının uyarılması ^{60,126}, lumen içine poliamin salınımı (Ig ve enzim salınımını açıklamakta), mukozal DNA miktarında artış ¹²⁶, polimerik Ig reseptör konsantrasyonunda artış ¹²⁶, *S. boulardii* proteazının *Clostridium difficile* toksin A'yı proteoliz etmesi ve reseptörüne bağlanmasını inhibe etmesi, bağırsaklarda patojenik mikroorganizmaların aşırı üremesine karşı antagonistik etki ⁵⁶, enterosit tight junctionlarının güçlendirilmesi ¹²⁸, patojen adhezyonunun inhibe edilmesi ¹⁴ ve IgA stimülasyonudur. ⁵¹

Çocuk ve erişkinlerde akut gastroenterit ve antimikrobiyal tedaviye adjuvan olarak kullanılan *S. boulardii* tedavisinin insanlarda herhangi bir yan etkisi veya toksik etkisi bildirilmemiştir. ⁶⁰ Rat ince bağırsağının mikroskopik incelemesinde jejunal lümeninde, yer yer villus hücreleri ile yakın temasta bulunan maya hücreleri gösterilmiştir. ⁶⁰ Aynı çalışmada *S.*

boulardii uygulanan (14 gün, 1 gr/gün) yedi gönüllünün duodeno-jejunumunda ise mukoza disakkaridazlarından sukraz, laktaz ve maltaz düzeylerinde artış olduğu, bağırsak mukozasında ise morfolojik değişiklik görülmediği saptanmıştır. Laktaz artışının sebebi olarak translasyonel seviyede bir protein sentezi stimülasyonu, *S. boulardii* hücreleri ya da bir metabolitinin proteolitik yıkımı veya mikrovilluslardan laktaz salınımı üzerindeki etkisi öne sürülmüştür.

S. boulardii'nin etki mekanizmasını aydınlatmak için planlanan, gerek hayvan modellerinde gerekse insanda uygulanan birçok çalışma bulunmaktadır.

S. boulardii'nin etki mekanizması ile ilgili olarak *C.difficile* toksin-A ile meydana gelen enteritte yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* kültür süpernatantının; *C. difficile* toksin-A veya insan kolonisit NCM460 hücrelerindeki IL-1 β tarafından indüklenen IL-8 üretimini doza-bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir.¹²⁹ In vivo olarak ise *S. boulardii*'nin *C. difficile* toksin-ilişkili enteriti, Erk1/2 MAP kinazların aktivasyonunu bloke ederek inhibe ettiği ve böylece *S. boulardii*'nin konak inflamatuvar sinyal yollarını modüle ederek bağırsak inflamasyonuna karşı koruma sağladığı iddia edilmiştir.

Buts ve ark.⁴⁹, ratlar üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada, sekretuar-IgA (s-IgA) ve immüoglobulinlerinin sekretuar komponentinin bağırsak sekresyonunun uyarılmasının, *S. boulardii*'nin gastrointestinal sistem üzerindeki immünoprotektif etkisinin mekanizmalarından bir tanesi olduğunu iddia etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Rodrigues ve ark.¹³⁰, *S. boulardii* ile kolonize edilen gnotobiyotik farelerde sekretuar IgA üretiminde (hem total, hem anti-*S. boulardii*) artış olduğunu, Kupffer hücre sayısının arttığını, TNF- α , IFN- γ , IL-12 serum düzeylerindeki artışın daha erken dönemde gerçekleştiğini ortaya koyarak, bu sonuçların *S. boulardii*'nin konak immün cevabını modüle ettiğini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Cetina-Sauri ve Basto¹³¹, çift-kör bir çalışmada 3 ay-3 yaş arasındaki 130 çocukta *S. boulardii*'nin dışkı sayısı ve yapısı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturduğunu göstermişlerdir. Billoo ve ark. da⁵³, çalışmalarında çocuklarda akut diyarede *S. boulardii*'nin dışkılama sıklığını ve hastalık süresini azalttığı bildirilmiştir. Yazarlar *S. boulardii*'nin bu etkisinin; IgA artışı ile de gösterilen lokal bağışıklığın uyarılması ve mukozanın trofik aktivitesinin poliamin salınımı yolu ile arttırılması olarak açıklamışlardır.

Oral poliamin uygulamasının, yenidoğan ratlarda bağırsak gelişimini hızlandırıp, enzim ekspresyonuna neden olduğu iddia edilmiştir.¹²⁶ Liyofilize *S. boulardii* uygulamasının da muhtemelen endoluminal spermin, spermidin ve putrescin salgısı ile düzenlenen ince bağırsaktaki trofik değişikliklere sebep olduğu bildirilmiştir.^{126,130} Bu maddelerin büyük bir ihtimalle canlı maya hücrelerinden, geçiş esnasında değil, onların bağırsaklardaki katabolizması ile salgılandıkları öne sürülmüştür. Yazarlar bu görüşü desteklemek amacıyla oral *S. boulardii*'nin yalnızca %3'ünün dışkıda canlı olarak bulunmasını delil olarak göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada Emler ve Corthier¹³², *C. difficile* ile infekte ratlarda sadece canlı *S. boulardii*'nin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan *S. boulardii*'nin in vivo gastrointestinal trakt şartlarında canlı kaldığı; mide, ince ve kalın bağırsakta yüksek miktarlarda bulunduğu (10^5 - 10^9 cfu/g, mide dokusu), dışkıdaki *S. boulardii* miktarının üst gastrointestinal sistemdeki sayıyı yansıtmadığı öne sürülmüştür.

Czerucka ve Rampal⁹, *S. boulardii*'nin intestinal lümende canlılığını sürdürerek B kompleks vitaminleri sentezlediğini, kompetisyon ile antimikrobiyal etki gösterdiğini, bu nedenle fırsatçı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek bir bariyer görevi üstlendiklerini iddia etmişlerdir. Ayrıca fagositer mononükleer sistem ve kompleman sistemi gibi nonspesifik anti-infeksiyöz savunma mekanizmalarını uyardığı da ortaya konulmuştur. Bir diğer çalışmada da kolera toksini inoküle edilen ratlarda antitoksik etki ile su ve sodyum hipersekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.⁹⁴

Adam ve ark.⁹¹, insanlarda bronkopulmoner infeksiyon veya üst solunum yolu infeksiyonu nedeniyle oral tetrasiklin ve beta-laktam antibiotik kullanan 388 hastada yaptıkları çok merkezli bir çalışmada, antibiyotiklerin diyare ve kandidiazis benzeri yan etkilerine, eşzamanlı olarak uygulanan *S. boulardii* ve plasebo tedavilerinin etkisini değerlendirmişlerdir. Plasebo grubunda %17.5 olan diyare oranı, *S. boulardii* grubunda %4.5 ve %17.5 olan kandidiazis oranı %2.0 olarak bulunmuş ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlı olarak bildirilmiştir.

S. boulardii'nin, insanlarda antibiyotik-ilişkili diyare ve kolitteki etkileri konusunda çok miktarda çalışma bulunmaktadır.¹³³⁻¹³⁸ *C. difficile* ile yapılan çalışmalardan birinde, *S. boulardii*'nin tek doz uygulamasının farelerin %16'sını infeksiyona karşı korurken, içme suyu ile sürekli uygulamasının ise bu oranı %56'ya çıkardığı tespit edilmiştir.¹³⁹

Rat duodenal kript hücrelerinde kolera toksininin hücresele etkisinin *S. boulardii* tarafından nötralizasyonu, maya tarafından salgılanan 120-kD'luk bir protein tarafından yürütülür. ¹⁴⁰ Ratlarda yapılan başka çalışmalar, kolera toksini tarafından uyarılan bağırsak epitel hücrelerinde *S. boulardii*'nin su-elektrolit sekresyonunu önleyici etkisi olduğunu göstermiştir. ^{132,141}

Entamoeba histolytica ile kolonize edilen ratlarda, *S. boulardii* tedavisi ile mukus ve amip miktarında azalma ile değerlendirilen hastalıklı rat sayısı ve hastalığın ciddiyetinde önemli ölçüde azalma sağlandığı; lezyonların histolojik görünümünde farklılık tespit edilmediği, ancak hem sayı ve evre olarak hem de iyileşmenin hızı açısından tedavinin oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir. ¹⁴² Yazarlar bu etkinin sebebi olarak adhezyon, sitolitik etki ve fagositoz evrelerinden birinin geçerli olduğunu iddia etmişlerdir.

Ducluzeau ve Bensaada ⁵⁶, *S. boulardii*'nin *Candida albicans*, *C. krusei* ve *C. pseudotropicalis*'e karşı etkili, *C. tropicalis*'e karşı ise etkisiz olduğunu iddia etmişlerdir. *Giardia lamblia*'ya bağlı kronik diyarede Guillot ve ark. ¹⁰ *S. boulardii*'nin plasebo göre istatistiksel açıdan anlamlı bir iyileşmeye yol açtığını göstermişlerdir. Yapılan jejunum biyopsisinde parsiyel villus atrofisinde *S. boulardii* verilen grupta belirgin iyileşme, plasebo grubunda ise değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Bir gastrin-salgilayıcı peptid olan bombesin ve *S. boulardii*'nin immünosupressif ratlarda, bağırsaklarda *C. albicans* translokasyonu üzerine olan etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Algin ve ark ⁵⁰, hem bombesin hem de *S. boulardii*'nin *C. albicans* translokasyonunu inhibe ettiğini, fakat kalın bağırsakta submukozal inflamasyon ve karaciğer ile dalakta yayılım açısından bombesinin daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

S. boulardii'nin in vitro olarak *Salmonella typhimurium* ve *Yersinia enterocolitica*'yı inhibe ettiği ve hücre kültüründe HeLa hücrelerini invaze etmelerini önlediği bildirilmiştir. ⁷⁸

Blehaut ve ark ⁵⁸, bağırsak florasının en sık mikroorganizması olan *Bacteroides*'in β 1–3 glukanaz enzimi salgılayarak, *S. boulardii*'nin hücre duvarında bulunan polisakkaridleri (glukan ve mannan) hidrolize ederek canlı *S. boulardii*'lerin ölümüne ve ölü *S. boulardii*'lerin ise degradasyonuna yol açtığını iddia etmiştir. *S. boulardii* dahil olmak üzere bazı mantarlarda da exo- β -glukanaz enziminin bulunduğunu da göstermişlerdir.

Çokmerkezli, randomize, çift-kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, *S. boulardii*'nin özellikle risk faktörü bulunan tüp ile beslenen hastalarda diyareli gün oranını %25'den %14.2'ye azalttığı bulunmuştur.⁸⁶ Nazogastrik tüp ile beslenen yanık hastalarında günde 2 g *S. boulardii* kullanılmasının diyare görülme sıklığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma oluşturduğu bildirilmiştir.⁹⁴

S. boulardii'nin bir diğer kullanım alanı ise inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. *S. boulardii*'nin bu hastalıktaki etki mekanizması; tutunma bölgeleri için rekabet, antimikrobiyal madde üretimi, antiinflamatuvar yolağın uyarılması şeklinde açıklanmaktadır.¹⁴³

Bununla birlikte *S. boulardii*'nin olumlu etkilerinin bulunmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. *S. boulardii*'nin etkili olmadığını bildiren bir çalışma *rotavirüs*'lerle gerçekleştirilmiştir.⁸¹ *S. boulardii* uygulaması *rotavirüs*'ün yaptığı histolojik değişikliklerde (stromal ayrışma, epitelyum vakuolasyonu) etkili olmamıştır. Bu çalışmada *S. boulardii*'nin toplam 48 saat gibi kısa bir süre uygulanmış olması dikkate alınmalıdır. En önemli bulgu histolojik incelemede, bağırsak epiteli ve lamina propria'da maya-benzeri partiküllerin görülmesidir. Yazarlar, maya translokasyonunda "Peyer plaklarında M hücreleri yoluyla, epitelyum hücreleri arasında transsellüler geçişle ve hücreler arasında parasellüler olarak" olmak üzere üç farklı mekanizma üzerinde durmuşlardır. *S. boulardii* translokasyonu konusunda önemli bir bilgi Rodrigues ve ark.¹³⁰, tarafından sunulmuştur. Ratlarla yapılan bir çalışmada *S. boulardii*'nin Peyer plaklarına ve mezenterik lenf nodlarına transloke olduğu gösterilmiştir. Mikroorganizmaların translokasyonu canlı mikroorganizmaların mukozal bariyerden bağırsak-dışı bölgelere (lenf nodları, karaciğer, böbrek ve kan) geçişidir. Translokasyon, endojen bağırsak bakteri infeksiyonları (fırsatçı infeksiyonlar), eksojen bakteriyel infeksiyonlar ve fizyolojik translokasyonlar (konak immün cevabın modülasyonundan sorumlu) olmak üzere üç şekilde gerçekleşmektedir.¹³⁰

S. boulardii'nin fırsatçı patojen olarak intravenöz kateterlere bağlı olarak *Saccharomyces* fungemisi meydana getirdiği de bildirilmiştir.⁵¹ Ticari olarak elde edilebilen *S. boulardii*'nin *S. cerevisiae*'den genotipik olarak ayırt edilemeyeceğini bildiren McCullough¹⁴⁴, *S. boulardii*'nin belirgin ve bağımsız ayrı bir tür olarak kabul edilmemesi gerektiğini, meydana gelen fungemi de göz önünde tutarak immün yetmezlikli hastalarda çok dikkatli kullanılması gerektiğini iddia etmişlerdir.

Bu konuda kliniğimizde yapılan bir tez çalışmasında, *S. boulardii* ve *S. sonnei* uygulanan immünyetmezlikli rat gruplarının her ikisinde de ekstraintestinal bölgelere sistemik yayılım sonucu karaciğer, dalak ve mezenterik lenf nodlarında translokasyon saptanmış ve bazı ratların kan örneklerinde üreme görülmüştür. Histopatolojik inceleme sonuçlarına göre, immünsüpresyon ve *S. sonnei* enfeksiyonu sonucu kalın bağırsak, karaciğer ve dalakta meydana gelen değişikliklere karşı *S. boulardii*'nin göreceli koruyuculuğunun ortaya konulduğu, *S. boulardii*'nin immünsüprese ratlarda *S. sonnei* enfeksiyonu tedavisinde in vivo olarak etkili bulunduğu belirtilerek,; ancak risk gruplarında terapötik kullanımında yarar-zarar dengesinin dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. ¹⁴⁵

S. boulardii'nin ratlarda, profilaktik uygulamada *C. jejuni* kolonizasyonunu engelleyici ve *C. jejuni* ile kolonize olanlarda kolonizasyonu ortadan kaldıracı etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, mikrobiyolojik değerlendirmede her iki grupta olumlu sonuçlar alınmış ve histopatolojik veriler de bu sonuçları desteklemiştir.

Histopatolojik açıdan değerlendirdiğimizde ise jejunum, ileum ve kolonda, lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerlerinin tüm gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda; ileumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık belirlenmiştir (sırasıyla; $p = 0,005$, $x^2 = 14,665$; $p = 0,031$, $x^2 = 10,613$; $p = 0,035$ ve $x^2 = 10,373$). Jejunumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda ise mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Histopatolojik parametrelerin (jejunum, ileum ve kolonda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser) gruplar arası karşılaştırmaları değerlendirildiğinde; Kontrol grubu (I.grup) ile *S. boulardii* grubu (II.grup), kontrol grubu (I.grup) ile kolonizasyon sonrası *S. boulardii* uygulanan grup (IV.grup) ve *S. boulardii* grubu (II.grup) ile kolonizasyon sonrası *S. boulardii* uygulanan grup (IV.grup) arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı görülmüş kontrol grubu (I.grup) ile profilaksi grubu (V.grup) arasında ise sadece kolon inflamasyonu açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu (I.grup) ile *C. jejuni* grubu (III.grup) arasında ise ileum ve kolonda; lamina propria inflamasyonu ve ileumda mukozal ülser değerleri bakımından, *S. boulardii* grubu (II.grup) ile *C. jejuni* grubu (III.grup) arasında ileumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser değerleri bakımından, *C. jejuni* grubu (III.grup) ile profilaksi grubu (V.

grup) arasında lamina propria inflamasyonu bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur. (Tablo-18). Bu bulgular *C. jejuni* grubunda (III.grup) kolonizasyona bağlı önemli histopatolojik değişiklikler olduğunu, profilaksi grubunda (V.grup) ve kolonizasyon sonrası *S. boulardii* uygulanan grupta (IV.grup) bu değişikliklerin daha hafif düzeyde olması *S. boulardii*'nin *C. jejuni* profilaksisinde ve kolonizasyonu sonrası uygulanmasında etkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda hayvan modeli olarak kullanılan ratlar en önemli gastroenterit etkenlerinden biri olan *C. jejuni* ile kolonize edilmiş, *S. boulardii* nin kolonizasyonu engelleyici etkisi araştırılmış ve bu etki mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak ortaya konulmuştur. Sağlanan profilaktik etkinin yanısıra *S. boulardii* uygulaması, *C. jejuni* ile kolonize edilmiş ratlarda ajanın eradikasyonunda da etkili bulunmuş ve infeksiyon tedavisinde yeni bir alternatif olabileceği düşünülmüştür. Yapılacak ileri çalışmalar ile *S. boulardii*'nin *C. jejuni* kolonizasyonu ile ilgili etki mekanizmasının aydınlatılarak, bu ajanın olası terapötik etkisi konusunda önemli ipuçları elde edilebileceği öngörülmektedir.

6. SONUÇLAR

S. boulardii'nin profilaktik kullanımında *C. jejuni* kolonizasyonunu engelleyici, *C. jejuni* ile kolonize ratlarda ise kolonizasyonu ortadan kaldırıcı etkisinin incelendiği bu çalışmada;

1. Mikrobiyolojik değerlendirmeler sonucu;

- III. grupta (*C. jejuni* grubu) bulunan ratların tümünün (%100) dışkı kültürlerinde *C. jejuni* üremiştir.
- IV.grupta (kolonizasyon + *S. boulardii* grubu) *C. jejuni* ile ratlar kolonize edildikten sonra 7. günde alınan dışkı kültürlerinde tüm ratlarda *C. jejuni* tespit edilmiş ve 7 gün *S. boulardii* tedavisi uygulandıktan sonra 8.günde alınan dışkı kültürlerinde *S. boulardii* üremiş, *C. jejuni* tespit edilmemiştir.
- V.grupta (profilaksi grubu) *S. boulardii* ile ratlara 7 gün profilaksi uygulandıktan sonra alınan dışkı kültürlerinde tüm ratlarda *S. boulardii* tespit edilmiş, 8. gün tek doz *C. jejuni* verilmiş ve takip eden 7. günde dışkı kültürlerinde *S. boulardii* üremiş, *C. jejuni* tespit edilmemiştir.

2. Histopatolojik değerlendirmeler sonucu;

a. Tüm grupların istatistiksel sonuçları (KW testi)

İleumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla ; $p = 0,005$, $x^2 = 14,665$; $p = 0,031$, $x^2 = 10,61$; $p = 0,035$, $x^2 = 10,373$), jejunumda; lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

b. Gruplar-arası istatistiksel sonuçlar (MWU testi)

- I. grup ile II. ve IV. gruplar arasında, II. grup ile IV. V. gruplar arasında, IV. ve V. gruplar arasında histopatolojik parametreler karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).
- I. ve III. gruplar arasında ileumda lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser, kolonda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında, I. ve V. gruplar arasında kolonda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$).
- II. ve III. gruplar arasında ileumda lamina propria inflamasyonu ve mukozal ülser median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$).
- III. ve IV. gruplar arasında ve III. ve V. gruplar arasında ileumda lamina propria inflamasyonu median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$).

3. *S. boulardii*'nin *C. jejuni* ile kolonize ratlarda, bakteriyi eradike edici etkisi ile ilgili mikrobiyolojik ve histopatolojik inceleme sonuçlarına göre; *S. boulardii* uygulamasının oluşturulan *Campylobacter* kolonizasyonunun eradikasyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir.

4. *S. boulardii*'nin *C. jejuni* ile kolonize ratlarda profilaktik kullanımında kolonizasyonu engelleyici etkisi ile ilgili mikrobiyolojik ve histopatolojik inceleme sonuçlarına göre; *S. boulardii* ile profilaksinin *Campylobacter* kolonizasyonunu önlemede etkili olduğu saptanmıştır.

5. Kolonizasyon + *S. boulardii* grubu (IV.grup) ile profilaksi grubu (V.grup) arasında histopatolojik değerlendirmeler bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmaması kolonizasyon sonrası ve profilaktik olarak *S. boulardii* uygulamasının histopatolojik parametreler üzerinde eşit düzeyde etkili olduğunu göstermiştir.

7.ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmadaki amaç, infeksiyöz ishal etkenleri arasında önemli yeri olan *C. jejuni*'ye karşı *S. boulardii*'nin profilaktik kullanımındaki ve kolonizasyon sonrası uygulamadaki etkisini araştırmaktır.

MATERYAL METOD: Çalışmada ratlar beş gruba ayrılmıştır: I.grup (kontrol grubu), II. grup (*S. boulardii* grubu), III.grup (*C. jejuni* grubu), IV.grup (kolonizasyon + *S. boulardii* grubu) ve V.grup (profilaksi grubu).

Mikrobiyolojik inceleme amacıyla alınan dışkı örnekleri, *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium ve Sabouraud Dextroz Agar'a ekilerek, *C. jejuni* ve *S. boulardii* açısından değerlendirilmiştir. Histopatolojik incelemede jejunum, ileum ve kolon örneklerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler skorlanarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizde Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

BULGULAR: *C. jejuni*'nin tek doz olarak verildiği grupta tüm ratların dışkı örneklerinde *C. jejuni* üretilerek *Campylobacter* kolonizasyonu %100 olarak sağlanmıştır. Bu grupta (III. grup) kolonizasyona bağlı önemli histopatolojik değişiklikler meydana gelmiş, IV. grupta (kolonizasyon + *S. boulardii* grubu) dışkı örneklerinin tamamında *S. boulardii* üremiş, *C. jejuni* ise ürememiştir. Mikrobiyolojik ve histopatolojik veriler ışığında, *S. boulardii* uygulamasının oluşturulan *Campylobacter* kolonizasyonunun ortadan kaldırılmasında etkili olduğu tespit edilmiştir.

Profilaksi grubunda (V.grup) *S. boulardii*'nin *C. jejuni* kolonizasyonunu engellediği ve profilaksi uygulanan ratların hiçbirinde *C. jejuni* kolonizasyonunun gerçekleşmediği

saptanmıştır. Kolonizasyon + *S. boulardii* grubu (IV.grup) ile profilaksi grubu (V.grup) arasında histopatolojik değerlendirmeler bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterilememiş, *S. boulardii* tedavisi ve profilaktik uygulamasının histopatolojik parametreler üzerinde eşit düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ: *S. boulardii*'nin rat modelinde *C. jejuni* kolonizasyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda inokülasyon öncesi uygulamanın *C. jejuni* kolonizasyonu engellediği, kolonizasyon sonrası uygulamasının ise *C. jejuni* kolonizasyonunu eradike ettiği mikrobiyolojik ve histopatolojik verilere dayanarak gösterilmiştir. Bu veriler ışığında *S. boulardii*'nin, *C. jejuni* üzerindeki, kolonizasyonu engelleyici ve ortadan kaldıracı özelliğinin etki mekanizmasını aydınlatmak amacı ile planlanacak deneysel çalışmaların, *S. boulardii*'nin gerek profilakside gerekse eradikasyon amacıyla kullanılabilecek bir probiyotik olup olmayacağı konusundaki yerini belirlemede, yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Saccharomyces boulardii*, *Campylobacter jejuni*, bağırsak kolonizasyonu, probiyotik

8.İNGİLİZCE ÖZET

ABSTRACT

Effect of *Saccharomyces boulardii* in *Campylobacter jejuni* in an animal model

AIM: The aim of this experimental animal study was to investigate the effect of *S. boulardii* on prophylaxis and colonization of *C. jejuni*, which is a common cause of infectious diarrhea.

MATERIAL METHOD: A total of 50 rats were divided into five groups: Group I (control group, only phosphate buffer solution was given), group II (*S. boulardii* group, only *S. boulardii* was given), group III (*C. jejuni* group, only *C. jejuni* was given), group IV (colonization and *S. boulardii* group, *S. boulardii* was given after colonization with *C. jejuni*), group V (prophylactic group, *C. jejuni* was given after *S. boulardii* prophylaxis)

Fecal samples were obtained for microbiological evaluation and inoculated onto *Campylobacter* Blood Free Selektif Medium for *C. jejuni* and Sabouraud Dextrose Agar for *S. boulardii*. Jejunum, ileum, and colon specimens were evaluated by histopathological examination and changes on lamina propria inflammation and mucosal ulceration were graded using a scale between 0–3. Data were analysed by using Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U-tests.

RESULTS: After applying a single dose of *C. jejuni*, *Campylobacter* colonization

was achieved in 100% of rats and significant changes were detected in the histopathological evaluation of this group. In contrast to these significant histopathological changes, in group IV (colonization + *S. boulardii*) *S. boulardii* was isolated from all cultures, but *C. jejuni* was not grown. Only *S. boulardii* was grown in group IV, which shows that *S. boulardii* was effective in the eradication of *C. jejuni* colonization. Similarly, prophylactic administration of *S. boulardii* in group V was shown to be effective in the inhibition of *C. jejuni* colonization in all rats. No statistically significant difference regarding histopathological changes between groups IV and V pointed out that, *S. boulardii* was effective both prophylactically and after colonization with *C. jejuni* and can be used for both of these purposes.

CONCLUSION: In this study as a result of investigations about the effects of *S. boulardii* in colonization with *C. jejuni* in a rat model and depending upon the microbiological and histopathological findings, it was shown that *S. boulardii* inhibited both *C. jejuni* colonization after prophylactic use and eradicated *C. jejuni* after colonization. More studies are thought to be needed to enlighten the mechanism of *S. boulardii*'s effect on *C. jejuni* which may lead the usage of *S. boulardii* for prophylaxis and eradication of this infectious agent.

Key Words: *Saccharomyces boulardii*, *Campylobacter jejuni*, intestinal colonization, probiotic

9. KAYNAKLAR

1. Özgüneş N, Ceylan T, Gündeş S, Üçışık, A, Yazıcı S ve ark. 1994 yılı akut gastroenterit olgularının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1995; 25:81–3.
2. Anonymous. *Gastrointestinal Tract Infections*. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld, editors. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th Edition. St. Louis, Missouri: Mosby, 2007;873–91.
3. Zhao C, Ge B, De Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S, et al. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella serovars* in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C., area. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67:5431–6.
4. Öngen B, Nazik H, Kaya I. Rutin dışı kültürlerinde üretilen *Campylobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları: 5 yıllık sonuçların değerlendirilmesi. ANKEM dergisi 2007; 21:37–41.
5. *Campylobacter* izolasyonu ve identifikasyonu standart işletim prosedürü. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalılar Araştırma ve Müdürlüğü, Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı. (<http://uepla.rshm.gov.tr/dosyalar/RSHMB%20Campylobacter%20SOP-180907.pdf>) Ulaşım tarihi: 12.02.2008
6. Chen ML, Ge Z, Fox JG, Schauer DB. Disruption of tight junctions and induction of proinflammatory cytokine responses in colonic epithelial cells by *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 2006; 74:6581–9.
7. Chang C, Miller JF. *Campylobacter jejuni* colonization of mice with limited enteric flora. *Infect Immun* 2006; 74:5261–71.
8. Blaser MJ. *Campylobacter* and related species. In: Mandell GL, Benneth JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th edition. New York: Churchill Livingstone, 1995;1948–54.
9. Czerucka D, Rampal P. Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens. *Microbes Infect* 2002; 4:733–9.

10. Guillot CC, Bacallao EG, Dominguez MSC, Garcia MF, Gutierrez PM. Effects of *Saccharomyces boulardii* in children with chronic diarrhea, especially cases due to giardiasis. *Revista Mexicana de Puericultura y Pediatría* 1995; 2:12.
11. Gültekin M. Probiyotikler. *ANKEM Derg* 2004; 18(Ek 2):87–89.
12. Ertör O. *Saccharomyces boulardii*: İnfeksiyöz ishal tedavisinde yeni bir seçenek mi? *Klimik Derg* 2003;16: 3–7.
13. Elmer GW, McFarland LV. Biotherapeutic agents in the treatment of infectious diarrhea. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30:837–54.
14. Rodrigues AC, Nardi RM, Bambirra EA, Vieira EC, Nicoli JR. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. *JR.J Appl Bacteriol* 1996; 81:251-6.
15. Dias RD, Bambirra EA, Silva ME, Nicoli JR. Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Bras J Med Biol Res* 1995; 28:323–5.
16. Allos MB. *Campylobacter*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. *Gorbach Infectious Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1992;1810–5.
17. Anonymous. *Campylobacter, Arcobacter, and Helicobacter*. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld, editors. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th Edition. St. Louis, Missouri: Mosby, 2007;416–23.
18. Anonymous. Curved gram-negative bacilli and oxidase-positive fermenters: *Campylobacteraceae* and *Vibrionaceae*. In: Winn WC Jr., Allen SD, Janda W, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL, editors. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th Edition. Philadelphia: JB Lippincott, 2006;393–428.
19. Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th edition. Washington DC: ASM Press, 1999;902–14.
20. Erdem B. *Campylobacter* ve *Helicobacter*. In: Ustaçelebi Ş, editor. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999;531–40.
21. Jones FS, Orcutt M, Little RB. *Vibriosis (Vibrio jejuni n. sp)* associated with intestinal disorders of cows and calves. *J Exp Med* 1931; 53:853–64.
22. King EO. Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *vibrio*. *J Infect Dis* 1957; 101:119–28.
23. Dekeyser P, Gossuin-Detrain M, Butzler JP, Sternon J. Acute enteritis due to related *vibrio*: first positive stool cultures. *J Infect Dis* 1972; 125:390–2.

24. Anonymous. *Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas, and Campylobacter*. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, editors. Textbook of Diagnostic Microbiology, 3rd edition. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007;505–12.
25. Vandamme P, De Ley J. Proposal for a new family. *Campylobacteraceae*. Int J Syst Bacteriol 1991; 41:451–5.
26. Anonymous. Gastrointestinal infections and food poisoning. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, editors. Textbook of Diagnostic Microbiology, 3rd edition. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007;900–14.
27. Nielsen EM, Engberg J, Fussing V, Petersen L, Brogren CH, On SL. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry, and cattle. J Clin Microbiol 2000; 38:3800–10.
28. Fitzgerald C, Hesel LO, Nicholson MA, Olsen SJ, Swerdlow DL, Flahart R, et al. Evaluation of methods for subtyping *Campylobacter jejuni* during an outbreak involving a food handler. J Clin Microbiol 2001; 39:2386–90.
29. de Boer P, Duim B, Rigter A, van Der Plas J, Jacobs-Reitsma WF, Wagenaar JA. Computer-assisted analysis and epidemiological value of genotyping methods for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J Clin Microbiol 2000; 38:1940–6.
30. Kärenlampi R, Rautelin H, Schönberg-Norio D, Paulin L, Hänninen ML. Longitudinal study of Finnish *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates from humans, using multilocus sequence typing, including comparison with epidemiological data and isolates from poultry and cattle. Appl Environ Microbiol 2007; 73:148–55.
31. Misawa N, Blaser MJ. Detection and characterization of autoagglutination activity by *Campylobacter jejuni*. Infect Immun 2000; 68:6168–75.
32. Nguyen HT, Corry JE, Miles CA. Heat resistance and mechanism of heat inactivation in thermophilic *Campylobacters*. Appl Environ Microbiol 2006; 72:908–13.
33. Beser J, Beebe J, Swaminathan B. Investigation of foodborne and waterborne disease outbreaks. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology, 7th edition. Washington DC: ASM Press, 1999;162–77.
34. Haşçelik G, Diker KS, Akyon V. İnsan ve hayvan kaynaklı *Campylobacter* suşlarının tiplendirilmesi. Infeksi Derg 1990; 4:523–7.
35. Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis 2001; 32:1201–6.

36. Quinn TC, Goodell SE, Fennell C, Wang SP, Schuffler MD, Holmes KK, et al. Infections with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter*-like organisms in homosexual men. *Ann Intern Med* 1984; 101:187–92.
37. Sabayan B, Foroughinia F, Imanieh MH. Can *Campylobacter jejuni* play a role in development of celiac disease? A hypothesis. *World J Gastroenterol* 2007; 21;13:4784–5.
38. Keramas G, Bang DD, Lund M, Madsen M, Bunkenborg H, Telleman P, et al. Use of culture, PCR analysis, and DNA microarrays for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from chicken feces. *J Clin Microbiol* 2004; 42:3985–91.
39. Merino FJ, Agulla A, Villasante PA, Díaz A, Saz JV, Velasco AC. Comparative efficacy of seven selective media for isolating *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 1986; 24:451–2.
40. Karmali MA, Simor AE, Roscoe M, Fleming PC, Smith SS, Lane J. Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. *J Clin Microbiol* 1986; 23:456–9.
41. Endtz HP, Ruijs GJ, Zwinderman AH, van der Reijden T, Biever M, Mouton RP. Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1007–10.
42. Steele TW, McDermott SN. The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathology* 1984; 16:263-5.
43. Harvey SM. Hippurate hydrolysis by *Campylobacter fetus*. *J Clin Microbiol* 1980; 11:435–7.
44. On SL. Identification methods for *Campylobacters*, *helicobacters*, and related organisms. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9:405–22.
45. Schmidt-Ott R, Brass F, Scholz C, Werner C, Gross U. Improved serodiagnosis of *Campylobacter jejuni* infections using recombinant antigens. *J Med Microbiol* 2005; 54:761–7.
46. Hindiyeh M, Jense S, Hohmann S, Benett H, Edwards C, Aldeen W, et al. Rapid detection of *Campylobacter jejuni* in stool specimens by an enzyme immunoassay and surveillance for *Campylobacter upsaliensis* in the greater Salt Lake City area. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3076–9.
47. Maher M, Finnegan C, Collins E, Ward B, Carroll C, Cormican M. Evaluation of culture methods and a DNA probe-based PCR assay for detection of *Campylobacter* species in clinical specimens of feces. *J Clin Microbiol* 2003; 41:2980–6.
48. Miller WG, Parker CT, Heath S, Lastovica AJ. Identification of genomic differences between *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* and *C. jejuni subsp. doylei* at the nap locus leads

to the development of a *C. jejuni* subspeciation multiplex PCR method. BMC Microbiol 2007; 7:11.

49. Buts JP, Bernasconi P, Vaerman JP, Dive C. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. Dig Dis Sci 1990; 35:251–6.

50. Algin C, Sahin A, Kiraz N, Sahintürk V, Ihtiyar E. Effectiveness of bombesin and *Saccharomyces boulardii* against the translocation of *Candida albicans* in the digestive tract in immunosuppressed rats. Surg Today 2005; 35:869–73.

51. Edwards-Ingram L, Gitsham P, Burton N, Warhurst G, Clarke I, Hoyle D, et al. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Environ Microbiol 2007; (8):2458–67.

52. Malgoire JY, Bertout S, Renaud F, Bastide JM, Mallié M. Typing of *Saccharomyces cerevisiae* clinical strains by using microsatellite sequence polymorphism. J Clin Microbiol 2005; 43:1133–7.

53. Billoo AG, Memon MA, Khaskheli SA, Murtaza G, Iqbal K, Saeed Shekhani M, et al. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. World J Gastroenterol 2006; 28:4557–60.

54. McFarland LV, P. Bernasconi P. *Saccharomyces boulardii*: A Review of an Innovative Biotherapeutic Agent. Microbial Ecology in Health and Disease 1993;6:157–71.

55. Berg R, Bernasconi P, Fowler D, Gautreaux M. Inhibition of *Candida albicans* translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of *Saccharomyces boulardii*. Infect Dis 1993; 168:1314–8.

56. Ducluzeau R, Bensaada M. Comparative effect of a single or continuous administration of *Saccharomyces boulardii* on the establishment of various strains of *Candida* in the digestive tract of gnotobiotic mice. Ann Microbiol (Inst. Pasteur) 1982; 1338:491–501.

57. Machado Caetano JA, Parames MT, Babo MJ, Santos A, Bandeira Ferreira A, Freitas AA, et al. Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy volunteers. Int J Immunopharmacol 1986; 8:245–9.

58. Blehaut H, Massot J, Elmer GW, Levy RH. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. Biopharm Drug Dispos 1989; 10:353–64.

59. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, et al. Prevention of beta-lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. Am J Gastroenterol 1995; 90:439–48.

60. Buts JP, Bernasconi P, Van Craynest MP, Maldague P, De Meyer R. Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *Pediatr Res* 1986; 20:192–6.
61. Canani RB, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A, et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ* 2007; 335:340.
62. de Vrese M, Marteau PR. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *J Nutr.* 2007; 137:803S-11S.
63. Çakır İ. *Laktobasillus* ve *bifidobakter*lerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi; 2003.
64. Filho-Lima JV, Vieira EC, Nicoli JR. Antagonistic effect of *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* and *Escherichia coli* combinations against experimental infections with *Shigella flexneri* and *Salmonella enteritidis* subsp. *typhimurium* in gnotobiotic mice. *J Appl Microbiol* 2000; 88:365–70.
65. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, Gao N, O'Keane CJ, Castagliuolo I, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 1993; 104:1108–15.
66. Peña AS. Intestinal flora, probiotics, prebiotics, symbiotics and novel foods. *Rev Esp Enferm Dig.* 2007; 99:653–8.
67. Qamar A, Aboudola S, Warny M, Michetti P, Pothoulakis C, LaMont JT, et al. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. *Infect Immun.* 2001; 69:2762–5.
68. Vanhoutte T, De Preter V, De Brandt E, Verbeke K, Swings J, Huys G. Molecular monitoring of the fecal microbiota of healthy human subjects during administration of lactulose and *Saccharomyces boulardii*. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72:5990–7.
69. Yılmaz M. Prebiyotik ve Probiyotikler. *Güncel Pediatri* 2004; 2:142-5.
70. İnanç, N. Şahin, H. Çiçek, B. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri *Erciyes Tıp Dergisi* 2005; 27:122-7.
71. Klein SM, Elmer GW, McFarland LV, Surawicz CM, Levy RH. Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii*, in healthy human volunteers. *Pharm Res* 1993; 10:1615–9.
72. Toothaker RD, Elmer GW. Prevention of clindamycin induced mortality in hamsters by *Saccharomyces boulardii*. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26:552–6.

73. Krammer M, Karbach U. Antidiarrheal action of the yeast *Saccharomyces boulardii* in the rat small and large intestine by stimulating chloride absorption. *Z Gastroenterol* 1993; 31:73–7.
74. Marteau P, Pochart P, Flourie B, Pellier P, Santos L, Desjeux J-F, et al. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *American J Clin Nutr* 1990; 52:685–8.
75. Zbinden R, Gönczı Enikö-E, Altwegg M. Inhibition of *Saccharomyces Boulardii* (nom. inval) on cell invasion of *Salmonella typhimurium* and *Yersinia enterocolitica*. *Microb Ecol Health Dis* 1999; 11:158–62.
76. Massot J, Desconclois M, Astoin J. Protection by *Saccharomyces boulardii* against *Escherichia coli* diarrhea in newborn mice *Ann Pharm Fr* 1983; 40:445–9.
77. Gedek BR. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*. *Mycoses* 1999; 42:261–4.
78. Kollaritsch H, Holst H, Grobara P, Wiedermann G. Prevention of traveler's diarrhea with *Saccharomyces boulardii*. Results of a placebo controlled double-blind study. *Fortschr Med* 1993; 111:152–6.
79. Gotteland M, Poliak L, Cruchet S, Brunser O. Effect of regular ingestion of *Saccharomyces boulardii* plus inulin or *Lactobacillus acidophilus* LB in children colonized by *Helicobacter pylori* *Acta Paediatr* 2005; 94:1747–51.
80. Chapoy P. Treatment of acute infantile diarrhea: controlled trial of *Saccharomyces Boulardii*. *Ann Pediatr (Paris)* 1985; 32:561–3.
81. Cartwright-Shamoon J, Dickson GR, Dodge J, Carr KE. Uptake of yeast (*Saccharomyces boulardii*) in normal and rotavirus treated intestine. *Gut* 1996; 39:204–9.
82. Penna FJ, Filho LA, Calçado AC, Junior HR, Nicolli JR. Up-to-date clinical and experimental basis for the use of probiotics. *J Pediatr* 2000; 76 Suppl 1:S209–17.
83. Erdeve O, Tiras U, Dallar Y. The probiotic effect of *Saccharomyces boulardii* in a pediatric age group. *J Trop Pediatr* 2004; 50:234–6.
84. Saint-Marc T, Blehaut H, Musial C, Touraine JL. Aids-related diarrhea: a double-blind trial of *Saccharomyces boulardii*. *Sem Hop Paris* 1995; 71:735–41.
85. James JS. Diarrhea, and the experimental treatment *Saccharomyces boulardii*. *AIDS Treat News* 1995; 2:1–4.

86. Bleichner G, Bléhaut H, Mentec H, Moysse D. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med* 1997; 23:517–23.
87. Elmer GW, Surawicz CM, McFarland LV. Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA* 1996; 275:870–6.
88. Graff S, Chaumeil JC, Boy P, Lai-Kuen R, Charrueau C. Formulations for protecting the probiotic *Saccharomyces boulardii* from degradation in acidic condition. *Biol Pharm Bull* 2008; 31:266–72.
89. Lestin F, Pertschy A, Rimek D. Fungemia after oral treatment with *Saccharomyces boulardii* in a patient with multiple comorbidities *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 48:2531–3.
90. Bornet M, Bergogne-Berezin E. Bacterial growth in enteral eliminations value of the addition of *Saccharomyces boulardii*. *Sci Aliments* 1986; 6:63–73.
91. Adam M. Controlled double blind clinical trials of *Saccharomyces boulardii* multicentre study involving 25 physicians and 388 cases. *Medecine& Chirurgie Digestives* 1976;5:401–6
92. Costalos C, Skouteri V, Gounaris A, Sevastiadou S, Triandafilidou A, Ekonomidou C, et al. Enteral feeding of premature infants with *Saccharomyces boulardii*. *Early Hum Dev* 2003; 74:89–96.
93. Tempe JD, Steidel AL, Bléhaut H, Hasselmann M, Lutun P, Maurier F. Prévention par *Saccharomyces boulardii* des diarrhées de l'alimentation entérale à débit continu. *Sem Hop Paris* 1983; 59:1409–12.
94. Schlotterer M, P. Bernasconi P, Lebreton F, Wassermann D. Value of *Saccharomyces boulardii* in the digestive acceptability of continuous-flow enteral nutrition in burnt patients. *Nutr Clin Metabol* 1987; 1:31–4.
95. Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15:697–8.
96. Plein K, Hotz J. Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea--a pilot study. *Z Gastroenterol* 1993; 31:129–34.
97. Girard P, Pansart Y, Lorette I, Gillardin JM. Dose-response relationship and mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhea in rats. *Dig Dis Sci* 2003; 48:770–4.

98. Geyik MF, Aldemir M, Hosoglu S, Ayaz C, Satilmis S, Buyukbayram H, et al. The effects of *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88:176–80.
99. Epoke J, Coker AO. Intestinal colonization of rats following experimental infection with *Campylobacter jejuni*. *East Afr Med J* 1991; 68:348–51.
100. Peret Filho LA, Penna FJ, Bambirra EA, Nicoli JR. Dose effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatments on morbidity and mortality in immunosuppressed mice. *J Med Microbiol* 1998; 47:111–6.
101. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and Other Yeasts of Medical Importance. In: Murray PR, Baron JE, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edition. Washington D.C.: ASM Press, 2003;1693-1712.
102. Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Ramos P, Chavez-Munguia B, Newburg DS. *Campylobacter jejuni* binds intestinal H (O) antigen (Fuc alpha 1, 2Gal beta 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection. *J Biol Chem* 2003; 278:14112–20.
103. Sahin O, Zhang Q, Meitzler JC, Harr BS, Morishita TY, Mohan R. Prevalence, antigenic specificity, and bactericidal activity of poultry anti-*Campylobacter* maternal antibodies. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67:3951-7.
104. Hickey TE, McVeigh AL, Scott DA, Michielutti RE, Bixby A, Carroll SA, et al. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin mediates release of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. *Infect Immun* 2000; 68:6535–41.
105. Altekruze SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni*--an emerging foodborne pathogen. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:28–35.
106. Byrne CM, Clyne M, Bourke B. *Campylobacter jejuni* adhere to and invade chicken intestinal epithelial cells in vitro. *Microbiology* 2007; 153:561-9.
107. Buttermont JR, Calderwood SB. *Vibrio cholerae O1*. In: M.J Blasor, P.D Smith, J.I Ravdin, H.B Greenberg and R.L Guerrant, editors. *Infections of the Gastrointestinal Tract* New York: Raven, 1995;649–70.
108. Bolder NM, Wagenaar JA, Putirulan FF, Veldman KT, Sommer M. The effect of flavophospholipol (Flavomycin) and salinomycin sodium (Sacox) on the excretion of *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis*, and *Campylobacter jejuni* in broilers after experimental infection. *Poult Sci* 1999; 78:1681-9.

- 109.** Lin J, Sahin O, Michel LO, Zhang Q. Critical role of multidrug efflux pump CmeABC in bile resistance and in vivo colonization of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 2003; 71:4250–9.
- 110.** Conlan AJ, Coward C, Grant AJ, Maskell DJ, Gog JR. *Campylobacter jejuni* colonization and transmission in broiler chickens: a modelling perspective. *J R Soc Interface* 2007; 4:819–29.
- 111.** Kakuda T, DiRita VJ. Cj1496c encodes a *Campylobacter jejuni* glycoprotein that influences invasion of human epithelial cells and colonization of the chick gastrointestinal tract. *Infect Immun* 2006; 74:4715–23.
- 112.** Karlyshev AV, Everest P, Linton D, Cawthraw S, Newell DG, Wren BW. The *Campylobacter jejuni* general glycosylation system is important for attachment to human epithelial cells and in the colonization of chicks. *Microbiology* 2004; 150:1957–64.
- 113.** Watson RO, Galán JE. *Campylobacter jejuni* survives within epithelial cells by avoiding delivery to lysosomes. *PLoS Pathog* 2008; 4:69–83.
- 114.** Lin J, Martinez A. Effect of efflux pump inhibitors on bile resistance and in vivo colonization of *Campylobacter jejuni*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:966–72.
- 115.** Naikare H, Palyada K, Panciera R, Marlow D, Stintzi A. Major role for FeoB in *Campylobacter jejuni* ferrous iron acquisition, gut colonization, and intracellular survival. *Infect Immun* 2006; 74:5433–44.
- 116.** Blaser MJ, Duncan DJ, Warren GH, Wang WL. Experimental *Campylobacter jejuni* infection of adult mice. *Infect Immun* 1983; 39:908–16.
- 117.** Farnell MB, Donoghue AM, de Los Santos FS, Reyes-Herrera I, Cole K, Dirain ML, et al. Effect of oral administration of bismuth compounds on *Campylobacter* colonization in broilers. *Poult Sci*. 2006; 85:2009–11.
- 118.** Loc Carrillo C, Atterbury RJ, el-Shibiny A, Connerton PL, Dillon E, Scott A, et al. Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71:6554–63.
- 119.** Cole K, Farnell MB, Donoghue AM, Stern NJ, Svetoch EA, Eruslanov BN, et al. Bacteriocins reduce *Campylobacter* colonization and alter gut morphology in turkey poults. *Poult Sci* 2006; 85:1570–5.
- 120.** Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ. Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* populations associated with broiler chickens subjected to transport stress. *Poult Sci* 1997; 76:1227–31.

121. Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ, Tompkins T. Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. *Poult Sci* 1998; 77:405–10.
122. Gaudreau C, Gilbert H. Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* strains isolated from humans in 1998 to 2001 in Montréal, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2003, 47:2027–9.
123. McDermott PF, Bodeis-Jones SM, Fritsche TR, Jones RN, Walker RD. Broth microdilution susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 2005; 43:6136–8.
124. Van Looveren M, Daube G, De Zutter L, Dumont JM, Lammens C, Wijdooghe M, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48:235–40.
125. Senok A, Yousif A, Mazi W, Sharaf E, Bindayna K, Elnima el-A, et al. Pattern of antibiotic susceptibility in *Campylobacter jejuni* isolates of human and poultry origin. *Jpn J Infect Dis* 2007; 60:1–4.
126. Buts JP, De Keyser N, De Raedemaeker L. *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. *Pediatr Res* 1994; 36:522-7.
127. Czerucka D, Nano JL, Bernasconi P, Rampal P. Effect of *Saccharomyces boulardii* on cholera toxin-induced cAMP levels in rat epithelial cell lines. *Gastroenterol Clin Biol* 1989; 3:383–7.
128. Czerucka D, Rampal P. Effect of *Saccharomyces boulardii* on cAMP- and Ca²⁺ -dependent Cl⁻ secretion in T84 cells. *Dig Dis Sci* 1999; 44:2359–68.
129. Chen X, Kokkotou EG, Mustafa N, Bhaskar KR, Sougioultzis S, O'Brien M, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibits ERK1/2 mitogen-activated protein kinase activation both in vitro and in vivo and protects against *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis. *J Biol Chem* 2006; 281:24449–54.
130. Rodrigues AC, Cara DC, Fretez SH, Cunha FQ, Vieira EC, Nicoli JR, et al. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. *J Appl Microbiol* 2000; 89:404–14.
131. Cetina-Sauri G, Gilberto SB. Therapeutic evaluation of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhea. *Annales de Pédiatrie* 1994; 41:397–400.
132. Elmer GW, Corthier G. Modulation of *Clostridium difficile* induced mortality as a function of the dose and the viability of the *Saccharomyces boulardii* used as a preventative agent in gnotobiotic mice. *Can J Microbiol* 1991; 37:315–7.

133. Castagliuolo I, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 1996; 64:5225–32.
134. Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L, LaMont JT, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67:302-7.
135. Erdem H, Polat Z, Kılıç S, Pahsa A. Klindamisin ile ilişkili Diyare ve *Saccharomyces boulardii*. *Klinik Dergisi* 2003; 16:31–3.
136. Erdeve E, Tıraş Ü, Çamurdan MO, Tanyer G, Dallar Y. Çocuk Yaş Grubunda Antibiyotiğe Bağlı İshallerde *Saccharomyces Boulardii*'nin Profilaktik Etkisi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2002; 11:121–125.
137. Surawicz CM, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, Chinn J, van Belle G. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology* 1989; 96:981–8.
138. Surawicz CM, McFarland LV, Elmer G, Chinn J. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with vancomycin and *Saccharomyces boulardii*. *Am J Gastroenterol* 1989 84:1285–7.
139. Corthier G, Dubos F, Ducluzeau R. Prevention of *Clostridium difficile* induced mortality in gnotobiotic mice by *Saccharomyces boulardii*. *Can J Microbiol* 1986; 32:894–6.
140. Czerucka D, Roux I, Rampal P. *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated cAMP induction in cultured intestinal cells. *Gastroenterology* 1994; 106:65–72.
141. Vidon N, Huchet B, Rambaud JC. Effect of *Saccharomyces boulardii* on water and sodium secretions induced by choera toxin. *Gastroenterol Clin Biol* 1986;10:13–6.
142. Rigotherier MC, Maccario J, Vuong PN, Gayral P. Effects of *Saccharomyces boulardii* yeast on trophozoites of *Entamoeba histolytica* in vitro and in cecal amebiasis in young rats. *Ann Parasitol Hum Comp* 1990; 65:51–60.
143. İşler M. İnflamatuvar bağırsak hastalığı ve probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji* 1995; 9:134–140.
144. McCullough MJ, Clemons KV, McCusker JH, Stevens DA Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.). *J Clin Microbiol* 1998; 36:2613-7.
145. Behçet M. *Shigella sonnei* ile infekte edilen immünsüprese ratlarda *Saccharomyces Boulardii*'nin tedavi edici etkisi ve translokasyonun araştırılması. Düzce: Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi; 2006.

10.RESİMLEMELER LİSTESİ

| Şekil No | Sayfa No |
|--|----------|
| Şekil-1. <i>C. jejuni</i> tanısal özellikleri | 14 |
| Şekil-2. <i>S. boulardii</i> 'nin Gram boyamadaki görünümü | 23 |
| Şekil-3. <i>C. jejuni</i> 'nin Blood Free Selektif Medium besiyerinde ve Gram boyamadaki görünümü | 37 |
| Şekil-4. Biyokimyasal otomatize sistemlerden ID CAUX ile <i>S. boulardii</i> izolatının tanımlanması | 38 |
| Şekil-5. Jejunumda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin 10x [Olgu no 3 (skor 0) ve olgu no 29 (skor 2)] | 46 |
| Şekil-6. İleumda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin 10x [Olgu no 14 (skor 0) ve olgu no 47 (skor 3)] | 47 |
| Şekil-7. Kolonda görülen mukozal ülser, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Olgu no 49 (skor 0) ve olgu no 29 (skor 2)] | 47 |
| Şekil-8. Jejunumda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Olgu no 36 (skor 0) ve olgu no 32 (skor 1)] | 48 |
| Şekil-9. İleumda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Olgu no 14 (skor 0) ve olgu no 28 (skor 3)] | 48 |
| Şekil-10. Kolonda görülen lamina propria inflamasyonu, ışık mikroskobu, hematoxylin&eosin, 10x [Olgu no 16 (skor 0) ve olgu no 30 (skor 3)] | 49 |
| Tablo No | Sayfa No |
| Tablo-1. <i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Helicobacter</i> ve <i>Flexipira</i> 'nın ayırıcı karakteristikleri. | 4 |

| | |
|--|----|
| Tablo–2. <i>Campylobacter</i> ve <i>Arcobacter</i> türleri; kaynakları ve insanlardaki hastalık spektrumu | 10 |
| Tablo–3. <i>Campylobacter</i> infeksiyonlarının özellikleri | 11 |
| Tablo–4. Çeşitli araştırmacılar tarafından <i>Campylobacter</i> 'lerin kültürü için Mikroaerofilik ortam oluşturmada kullanılan çeşitli işlemler | 15 |
| Tablo–5. <i>C. jejuni</i> izolasyonu için Seçici Besiyeri formülleri | 17 |
| Tablo–6. <i>Campylobacter</i> 'ler ve tıbbi önemi olan ilişkili grupların ayırıcı özellikleri | 20 |
| Tablo–7. Probiyotik seçim kriterleri | 26 |
| Tablo–8. Grup I'de (sadece fosfat buffer salin verilenler) <i>C. jejuni</i> izolasyon sonuçları | 40 |
| Tablo–9. Grup II'de (sadece <i>S. boulardii</i> verilenler) <i>S. boulardii</i> izolasyon sonuçları | 41 |
| Tablo–10. Grup III'de (sadece <i>C. jejuni</i> verilenler) <i>C. jejuni</i> izolasyon sonuçları | 41 |
| Tablo–11. Grup IV'de (<i>C. jejuni</i> ile kolonize edilip <i>S. boulardii</i> verilenler) <i>S. boulardii</i> ve <i>C. jejuni</i> izolasyon sonuçları | 42 |
| Tablo–12. Grup V'de (<i>S. boulardii</i> ile profilaksi uygulanıp <i>C. jejuni</i> verilenler) <i>S. boulardii</i> ve <i>C. jejuni</i> izolasyon sonuçları | 43 |
| Tablo–13. Grup I'deki (sadece fosfat buffer salin verilenler) ratların jejenum, ileum ve kolon'larında meydana gelen patolojik değişiklikler | 44 |
| Tablo–14. Grup II'deki (sadece <i>S. boulardii</i> verilenler) ratların jejenum, ileum ve kolon'larında meydana gelen patolojik değişiklikler | 44 |
| Tablo–15. Grup III'deki (sadece <i>C. jejuni</i> verilenler) ratların jejenum, ileum ve kolon'larında meydana gelen patolojik değişiklikler | 45 |
| Tablo–16. Grup IV'deki (kolonizasyon + <i>S. boulardii</i> grubu) ratların jejenum, ileum ve kolon'larında meydana gelen patolojik değişiklikler | 45 |
| Tablo–17. Grup V'deki (profilaksi uygulanıp <i>C. jejuni</i> verilenler) ratların jejenum, ileum ve kolon'larında meydana gelen patolojik değişiklikler | 46 |
| Tablo–18. Grupların istatistiksel açıdan karşılaştırılmaları | 51 |
| Tablo–19. Ratlarda; jejenum, ileum ve kolonda meydana gelen patolojik değişiklikler ve grupların bu parametreler açısından karşılaştırmaları | 52 |

11. ÖZGEÇMİŞ

07.06.1974 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1996 senesinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Karaman, Elazığ, İstanbul ve Düzce'de pratisyen hekimlik yaptım. 03.12.2003 tarihinde Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda başladığım uzmanlık eğitimime halen aynı kurumda devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.