

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOKAK KEDİLERİNİN SALYA ve DENTAL PLAK ÖRNEKLERİNDEN
GASTRİK HELİKOBAKTERLERİN KÜLTÜREL YÖNTEMLER ve PCR ile
ARAŞTIRILMASI

Serdal TARHANE
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Salih OTLU

2017-KARS

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOKAK KEDİLERİNİN SALYA ve DENTAL PLAK
ÖRNEKLERİNDEN GASTRİK HELİKOBAKTERLERİN KÜLTÜREL
YÖNTEMLER ve PCR ile ARAŞTIRILMASI

Serdal TARHANE

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Salih OTLU

Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından
desteklenmiştir. Proje No: 2015-TS-73

2017-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Serdal TARHANE tarafından hazırlanmış olan “Sokak Kedilerinin Salya ve Dental Plak Örneklerinden Gastrik Helikobakterlerin Kültürel Yöntemler ve PCR ile Araştırılması” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca **OY BİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/02/2017

Adı Soyadı

Başkan: Prof.Dr. Fuat AYDIN
Üye : Prof.Dr. Mitat ŞAHİN
Üye : Prof.Dr. Salih OTLU
Üye : Prof.Dr. Oktay GENÇ
Üye : Yrd.Doç.Dr. Özgür ÇELEBİ

İmza

.....
.....
.....
.....
.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24.02./2017 gün ve 06./41. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. M.Özkan ARSLAN

Enstitü Müdürü V.



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimi ile yol gsteren, bu tez çalışmasında yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Salih OTLU'ya, ayrıca öneri ve katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Mitat ŞAHİN'e, laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Fatih BÜYÜK, Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ, Yrd. Doç. Dr. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM, Arő. Gör. Dr. Elif ÇELİK ve Arő. Gör. Mustafa Reha COŐKUN'a, sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca desteklerinden dolayı hocalarım sayın Doç. Dr. Mustafa YÜKSEK, sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim RENCÜZOĞULLARI, Yrd. Doç. Dr. Ali YİĞİT'e ve değerli arkadaşım Ali GÜZEL'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar LİSTESİ	v
RESİMLER LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
1. GENEL BİLGİLER	4
1.1. Tarihçe	4
1.2. Sınıflandırma ve Morfoloji	5
1.2.1. <i>Helicobacter pylori</i>	6
1.2.2. <i>Helicobacter heilmannii</i>	7
1.2.3. <i>Helicobacter felis</i>	8
1.3.1. Gastrik Helikobakterlerin Epidemiyolojisi	9
1.3.2. Gastrik Helikobakterlerin Bulaşma Yolları	12
1.4.1. Virulans Faktörleri	13
1.4.1.1. Kolonizasyondan Sorumlu Faktörler	14
1.4.1.1.1. Flagella	14
1.4.1.1.2. Üreaz	14
1.4.1.1.3. Adhezyon Sağlayıcı Faktörler	15
1.4.1.2. Doku Hasarından Sorumlu Faktörler	15
1.4.1.2.1. Sitotoksin İlişkili A Geni (<i>CagA</i>)	16
1.4.1.2.2. Lipopolisakkaritler	16
1.4.1.2.3. Lökosit Aktive Edici Faktörler	17
1.4.1.2.4. Vakuolize Edici Sitotoksin (<i>VacA</i>)	17

1.4.1.2.5. Tiyoredoksin	18
1.5. Biyokimyasal Özellikleri	18
1.6. Kültürel Özellikleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları	19
1.7. Gastrik Helikobakterlere Karşı İmmun Yanıt	20
1.8.1. Gastrik Helikobakterler ile İlişkilendirilen Hastalıklar	22
1.8.1.1. Akut İnfeksiyon	23
1.8.1.2. Dispepsi	23
1.8.1.3. Kronik Gastrit	23
1.8.1.4. Peptik Ülser	24
1.8.1.5. Gastrik Adenokarsinoma	24
1.8.1.6. Mide Özofagus Reflü Hastalığı (GERD)	25
1.8.1.7. Kolorektal Kanser	25
1.8.1.8. Sindirim Sistemi Dışındaki Hastalıklar	25
1.9. Gastrik Helikobakterlerin Tanısında Kullanılan Yöntemler	25
1.9.1. Histolojik Yöntemler	26
1.9.2. Kültür	26
1.9.3. Hızlı Üreaz Testi	27
1.9.4. Serolojik Testler	28
1.9.5. Üre Solunum Testi (UBT)	29
1.9.6. Gaitada Antijen Testi (HpSA- <i>H. pylori</i> Stool Antigen Test)	29
1.9.7. Moleküler Yöntemler	30
1.10. Tedavi, Korunma ve Kontrol	31
2. MATERYAL VE METOT	35
2.1. Materyal	35
2.1.1. Sokak Kedilerinin Yakalanmasında Kullanılan Materyaller	35
2.1.2. Örneklerin Alınmasında Kullanılan Materyaller	36
2.1.3. Örneklerden <i>Helicobacter</i> İzolasyon ve İdentifikasyonu Amacıyla Kullanılan Materyaller	36
2.2. Metot	42
2.2.1. Sokak Kedilerini Yakalama Yöntemi	42
2.2.2. Örneklerin Alınması	43
2.2.3. Örneklerden <i>Helicobacter</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu	48

2.2.4. Gram Boyama ve Mikroskopik Morfoloji	48
2.2.5. Biyokimyasal Testler	49
2.2.5.1. Oksidaz Testi	49
2.2.5.2. Katalaz Testi	49
2.2.5.3. Üreaz Testi	49
2.2.5.4. Moleküler Tanımlama Çalışmaları	49
2.2.5.4.1. İzolatlardan DNA Ekstraksiyonu	49
2.2.5.4.2. Dokudan DNA Ekstraksiyonu	50
2.2.5.4.3. PCR ile İdentifikasyon	51
2.2.5.4.4. Cins Düzeyinde İdentifikasyon	51
2.2.5.4.5. Elektroforez ve Görüntüleme	54
2.3. İstatistiksel Değerlendirme	54
3. BULGULAR	55
3.1.1. Örneklerden <i>Helicobacter</i> spp. İzolasyon ve İdentifikasyonu Bulguları	55
3.1.2. İzolatların PCR ile İdentifikasyonu Bulguları	58
3.1.3. Salya ve Dental Plak Örneklerinin Direk Cins Spesifik PCR Bulguları	59
3.1.4. Salya ve Dental Plak Örneklerinin Tür Spesifik PCR Bulguları	64
3.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları	65
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	68
5. KAYNAKLAR	77
6. ÖZGEÇMİŞ	88

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Gastrik Helikobakter türlerinin buldukları hayvan türü, yerleştikleri organ ve oluşturdukları hastalıklar	6
Tablo 2. Gastrik Helikobakter türlerinin morfolojik yapısı	7
Tablo 3. <i>H. pylori</i> infeksiyonunda uygulanan tedavi stratejileri	34
Tablo 4. PCR da kullanılan primerler ve dizilimi	40
Tablo 5. Yakalanan kedilerin cinsiyeti örneklem tarihi ve yakalandığı yer	45
Tablo 6. Helikobakter cins spesifik PCR termal şartlar ve siklus sayıları	52
Tablo 7. Helikobakter tür spesifik PCR termal şartlar ve siklus sayıları.....	54
Tablo 8. Helikobakter izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirilen örnekler ile türleri	58
Tablo 9. Salya ve dental plak izolatlarının Helikobakter tür spesifik PCR sonucu. .	59
Tablo 10. Salya ve dental plak örneklerinin direk cins spesifik PCR bulguları.....	60
Tablo 11. Cins spesifik PCR pozitif bulunan salya ve dental plak örnek türleri ve sayıları ile tür spesifik PCR sonuçları.	64
Tablo 12. Salya ve dental plak örneklerinden <i>Helicobacter</i> spp. izolasyon sonuçlarının istatistiksel analizi.....	65
Tablo 13. Salya ve dental plak örneklerinden <i>Helicobacter</i> spp. tespiti amacıyla cins spesifik primerler kullanılarak elde edilen PCR sonuçlarının istatistiksel analizi.	66
Tablo 14. Salya ve dental plak örneklerinden <i>üreaz B</i> genini hedef alan primerler kullanılarak elde edilen tür spesifik PCR bulguları istatistiksel analizi	66

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Kedi kapağı ve kısımları.....	35
Resim 2. Sokak kedilerinin kapağıyla yakalanması	42
Resim 3. Yakalanan kedilerin fileye aktarımı	43
Resim 4. Kedilerin zaptı raprt altına alınması.....	43
Resim 5. Örneklerden izole edilen bir <i>H. heilmannii</i> suşunun kanlı agardaki koloni morfolojisi.	56
Resim 6. Örneklerden izole edilen <i>Helicobacter</i> spp. mikroskopik görüntüsü.	56
Resim 7. Örneklerden izole edilen <i>Helicobacter</i> spp. biyokimyasal test sonuçları...57	
Resim 8. Salya ve dental plak örneklerinin Helikobakter cins spesifik PCR sonucu bant görünümü.....	59
Resim 9. Örneklerden izole edilen <i>Helicobacter</i> spp. lerin tür spesifik primerler ile PCR sonucu ortaya konan <i>H. heilmannii</i> bantlarının görünümü.....	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>H. heilmannii</i> elektron mikroskop görüntüsü	8
Şekil 2. Gastrik Helikobakterlerin elektron mikroskobu görüntüsü	9
Şekil 3. Gastrik Helikobakterlerin üreaz aktivitesi	15
Şekil 4. Gastrik Helikobakterlerle kanserin oluşmasını gösteren histolojik kademeler	24



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
Cag A	Sitotoksin İlişkili A Geni
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GERD	Mide Özofagus Reflü Hastalığı
HpSA	<i>H. pylori</i> Gaitada Antijen Testi
HP-NAP	<i>H. pylori</i> Nötrofil Aktive Edici Proteini
IARC	Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Ajansı
ICA	İmmun Kromatografik Assay
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
kDA	Kilodalton
LPS	Lipopolisakkaritler
MALT Lenfoma	Mukoza İlişkili Lenfoid Doku Lenfoması
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorid
ml	Mililitre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKC	Proteinkinaz C
pmol	Pikomol
PPI	Proton Pompa İnhibitörü
rpm	Revolution Per Minute
SPSS	Statistical Package for the Social Science
TBE	Tris- BorikAsit EDTA
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
Trx	Tiyerodoksin
UBT	Üre Solunum Testi
VacA	Vakuolize Edici Sitotoksin

WHO

Dünya Sağlık Örgütü (World Health
Organisation)

χ^2

Pearson Chi-Square



ÖZET

Sokak Kedilerinin Salya ve Dental Plak Örneklerinden Gastrik Helikobakterlerin Kültürel Yöntemler ve PCR ile Araştırılması

Gastrik Helikobakter türleri insanlar ve çeşitli hayvanların gastrointestinal sisteminden izole edilen ve özellikle insan midesinde çeşitli yangısal değişikliklere sebep olabilen Gram negatif ve helikal görünümlü bakterilerdir. Bu tez çalışmasında Kars Yöresi'nde yaşayan sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örneklerinden Gastrik Helikobakterlerin kültürel yöntemler ve PCR ile araştırılması amaç edinilmiştir. Bu amaçla 100 sokak kedisinden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneği değerlendirilmiştir. Kültürel yoklamalar sonucunda salya örneklerinin 10 (%10)'undan, dental plak örneklerinin 5 (%5)'inden *Helicobacter* spp. izolasyon ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolatların tümü PCR ile *H. heilmannii* olarak tespit edilmiştir. Salya ve dental plak örnekleri alınan 100 sokak kedisinin 65 (%65)'inde cins spesifik PCR ile *Helicobacter* spp. tespiti yapılmıştır. Cins spesifik PCR ile pozitif bulunan 50 salya örneğinin 19 (%38)'u, 20 dental plak örneğinin 10 (%50)'u *üreaz B* genini hedef alan primerler kullanılarak yapılan tür spesifik PCR sonucu *Helicobacter heilmannii* olarak tespit edilirken, *Helicobacter pylori* ve *Helicobacter felis* belirlenememiştir. Sonuç olarak, mevcut çalışmada sokak kedilerinin salya ve dental plak örneklerinde Gastrik Helikobakter türlerinin belirli oranlarda izole edilmesi ve PCR ile belirlenmesi araştırmalarda noninvazif yolla ve kolay elde edilen örneklerin de tanı amacıyla kullanılabilceğini, bu hayvanların çeşitli sekret ve ekskretleriyle etkenlerin insanlara bulaşmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: Sokak kedisi, salya, dental plak, Gastrik Helikobakter, kültür, PCR

ABSTRACT

Investigations of Gastric Helicobacters from Saliva and Dental Plaque of Stray Cats by Cultural Methods and PCR

Gastric Helicobacters are Gram negative and helical shaped bacteria that isolated from gastrointestinal systems of humans and various animals and particularly can cause various inflammatory differences in stomach of human. In this study it was aimed that investigation of Gastric Helicobacters from saliva and dental plaque samples taken from stray cats that live in Kars district by cultural methods and PCR. For this purpose 100 saliva and 100 dental plaque samples taken from 100 stray cats were evaluated. At the result of cultural examinations *Helicobacter* spp. Was isolated and identified from 10 (10%) saliva and 5 (5%) dental plaque samples. All of the isolates were identified as *Helicobacter heilmannii*. *Helicobacter* spp. was determined by genus-specific PCR in 65 (65%) of 100 stray cats from which were collected saliva and dental plaque samples. While 19 (38%) of 50 saliva samples and 10 (50%) of 20 dental plaque samples determined as positive by genus-specific PCR were typing as *Helicobacter heilmannii* by species-specific PCR using of primers that target *urease B* gene, *Helicobacter pylori* and *Helicobacter felis* couldn't be determined. In conclusion, in this study, isolation of Gastric Helicobacter species at certain rates in saliva and dental plaque samples of stray cats and their determination by PCR bring to mind that samples obtained easily and by non-invasive way can be used for diagnostic purposes in researches as well, may play a role in transmission of agents by various secretions and excreta of these animals.

Key words: Stray cat, saliva, dental plaque, Gastric Helicobacters, culture, PCR

GİRİŞ ve AMAÇ

Gastrik Helikobakter türleri insanlar dahil çeşitli hayvanlarda gastro intestinal bölgeyi infekte eden ve midede çeşitli yangısal değişikliklere sebep olabilen Gram negatif, sporsuz ve helikal görünümlü bakterilerdir. İnsanlarda yürütülen araştırmalar gelişmekte olan toplumlarda Gastrik Helikobakterlerden *Helicobacter pylori*'nin yaklaşık %70 - %90 prevalansa sahip olduğunu gösterirken (Hunt ve ark. 2010, 2012), bu oranın gelişmiş toplumlarda daha düşük olduğu bildirilmiştir (Fritz ve ark. 2006). *H. pylori* 1982 yılında Marshall ve Warren tarafından invitro koşullarda üretilen ilk Gastrik Helikobakter türü olup insan mide biyopsi örneğinden kültüre edilmiştir (Jamilohun ve Otegbayo 2016). Gastrik Helikobakterlerden *H. pylori*'nin insan midesinde meydana getirdiği yangısal değişiklikler açısından önemi anlaşıldıktan sonra Gastrik Helikobakterlerin diğer türleri insan dışındaki primatlardan ve çeşitli hayvanlardan da çalışılmış, izole ve identifiye edilebilmiştir (Alm ve ark. 1999).

Helicobacter pylori dışında *Helicobacter heilmannii* ve *Helicobacter felis* insanları da infekte eden iki Gastrik Helikobakter türü olup (Ciasholm ve Owen 2003) bu bakteri türlerinden *H. felis* ve *H. heilmannii* öncelikle kedilerin midesinden izole edilmiş ve daha sonraları bu bakteri türlerinin insanları da infekte edebildiği rapor edilmiştir (Andersen ve ark. 1999). İnsanların Gastrik Helikobakter türlerinden en çok *H. pylori* tarafından infekte edildiği, *H. felis*'in ise insan midesinde kolonizasyon oranının çok düşük olduğu (%3) bildirilmiştir (Yakoob ve ark. 2012). *H. heilmannii* için ise bu oranın çok daha düşük olduğu (%0.2 ile 2.4) rapor edilmiştir (Anderson ve ark. 1999).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Gastrik Helikobakter türlerinden, *H. pylori*'nin insanlarda; peptik ülser, kronik gastritis, Mukoza İlişkili Lenfoid Doku (MALT) lenfoma ve mide kanserinden birincil derecede sorumlu olduğunu bildirmektedir (Yılmaz 2004). Ayrıca Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) ise 1994 yılında 11 ülkenin deneyimli kanser uzmanlarının katıldığı bir toplantıda eldeki

verileri değerlendirerek *H. pylori*'nin insan midesi için karsinojen olduğu sonucuna karar vermişlerdir (Uyanık ve Aktaş 2007).

İnsanlarda *H. pylori*'nin ortaya konmasının ardından hayvanlardaki varlığı ve bunların zoonotik potansiyeli üzerinde fazla çalışılmamış, ancak Makak cinsi maymundan *H. pylori* izole edildikten sonra Gastrik Helikobakter türlerinin hayvanları da infekte edebildiği anlaşılmış (Shuto ve ark. 1993) ve günümüze kadar bu çalışmalar hız kazanmıştır. Gastrik Helikobakterlerden insan midesinde kolonize olabilen, *H. pylori*, *H. felis* ve *H. heilmannii*'nin, klinik belirti göstermeyen kedilerin midesinde de kolonize olabildiği bilimsel makaleler ile ortaya konmuştur (Perkins ve ark. 1996).

Çeşitli canlılarda Gastrik Helikobakterlerin araştırılması genellikle mide biyopsi örnekleri üzerine yürütülmüş olup (Hammer ve ark. 2002), bu bakterilerin invazif karakterlerinin düşüklüğü nedeniyle kan örneklerinden izolasyonun çok nadir olduğu belirtilmiş, dışkı örneklerinden ise PCR yöntemiyle bakterilerin varlıkları rapor edilmesine rağmen kültüre edilemediği belirtilmiştir (Mishra ve Ark. 2008). Gastrik Helikobakterlerin mide biyopsi örnekleri dışında çeşitli hayvanların salya ve dental plaklarından izolasyonu ve moleküler tiplendirilmesi üzerine araştırmalar da yapılmıştır (Falsafi ve ark. 2007, Pattiyathane ve ark. 2009). Ancak gerek mide biyopsi örneklerinden gerek salya ya da dental plaklardan bu bakteri türlerinin kültürünün zor olduğu, taşınma koşul ve zamanına dikkat edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Sağnak ve zgr 2011). Gastrik Helikobakterlerin tanısında invazif, invazif olmayan girişimlerin yanı sıra moleküler teknikler uygulanmış olup bu yöntemlerden antibiyotik duyarlılık testlerine olanak vermesi ve bu bakterilere karşı uygulanacak aşı çalışmalarına imkân sağlaması nedeniyle kültürün en güvenilir olduğu bildirilmiştir (Balcılar 2009).

Yapılan literatür taramasında, kedilerin ağız boşluğuna ait örneklerde *Helicobacter* spp. varlığının araştırılmasına ilişkin yurdumuzda yürütülmüş bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ülkemizde ilk kez planlanan bu tez çalışmasında Kars Yöresi'nde yaşayan sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örneklerinden

Gastrik Helikobakterlerin kültürel yöntemler ve PCR ile araştırılması amaç edinilmiştir. Örneklerle yapılacak kültürel ve PCR çalışmaları sonucu sokak kedilerinin ağız boşluğunda Gastrik Helikobakterlerin varlığı ile zoonotik karakterli olduğu tartışılan *H. pylori*, *H. felis* ve *H. heilmannii*'nin tür düzeyinde identifikasyonu sağlanacaktır. Ayrıca Kars yöresinde yaşayan sokak kedilerinde Gastrik Helikobakterlerin ağız boşluğunda kolonizasyon oranı ve prevalansı belirlenerek olası oral-oral bulaş yolu tartışılacaktır.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Tarihçe

Gastrik Helikobakterler insan ve çeşitli hayvan türlerinin sindirim sistemlerinde bulunabilen ve midede yangısal değişikliklere neden olabilen, spiral veya kokoid formda mikroorganizmalardır (Meining ve ark 1998). İnsanlık tarihinin en eski refakatçisi olduğu düşünülen Gastrik Helikobakterlerin ilk farkına varılması 1875’lerde Alman anatomistler tarafından gerçekleştirilmiş, mide mukus tabakalarında spiral bakterilere rastlanmış, ancak bu bakterilerin *in vitro* ortamda üretilmesi başarısız olduğundan bu bakteriler hakkındaki bilgiler sınırlı kalmıştır (Lynch 2016).

Gastrik Helikobakterler, 19. yüzyılın başlarından beri insan midesinin salgılarında daha önceden görülmüş olmasına rağmen midede meydana gelen yangısal değişikliklerle olan ilişkileri 1982 yılında anlaşılabilmiştir (Weyden ve ark. 2005). Gastrik Helikobakterler insanların mide mukozasında kolonize olan, peptik ülser, gastrit ve gastrik kanserle ilişkilendirilen bakterilerdir (Toyoda ve ark. 2014). Bilim insanları, *H. pylori*’nin peptik ülserden sorumlu olduğunu keşfettikleri zaman insan midesinin mikrobiyolojisi ve patolojisi daha iyi anlaşılabilmiştir. Daha önceleri mide ortamının asidik olması nedeniyle steril kabul edilerek gastrit ve mide ülserinin midedeki aşırı asit salgılanmasıyla alakalı olduğu düşünülmekte ve bunun tedavisinin midedeki asit salgısının indirgenmesiyle düzeltilebileceği savunulmaktaydı (Meuler 2011). Bu bakterilerin önemine dikkat çeken diğer bilgiler 1970’li yılların sonlarına doğru Avustralya’lı bir patoloğ olan Robin Warren tarafından verilmiş ve bakteri (*H. pylori*) ilk kez 1982 yılında Warren ve Marsall tarafından üretilebilmiştir. Üretilen bu spiral bakterilerin, çok daha uzun zaman önce İtalyan bir patoloğist olan Giulio Bizzozero tarafından köpeklerin midesinde de belirlenmiş olduğunun farkına varılmıştır (Park ve ark. 2003, Marshall 2005).

Daha önce Polonya’lı klinik araştırmacı Dr. W. Jaworski insan mide sıvısından bu bakterileri tanımlamış olsa da sonraki yıllarda birçok araştırmacı da

insan midesinde spiral bakterilerin varlığını belirlemiş (Konturek 2003), ancak bu bakterilerin cerrahide kullanılan ekipmanlar tarafından bulaştığını düşünmüşlerdir. 1970'lerin başlangıcında fiber optik endoskopinin kullanılmasıyla araştırmacılar insan midesinde Gram negatif basil bakterileri rapor etmiş ve ülserli hastaların %80'inde görüldüğünü belirtmişlerdir (Meuler 2011).

Gastrik Helikobakterlerden invitro koşullarda Marshall ve Warren tarafından ilk üretileni *H. pylori*'dir. Bu bakteriye ait ilk bulgular Marshall ve Warren tarafından 1984 yılında "Lancet" dergisinde yayınlanmıştır (Marshall ve Warren 1984). Warren ve Marshall bu alandaki çalışmalarından dolayı 2005 yılında Nobel ödülünü almışlardır. İlk başlarda *H. pylori* yapısal olarak *Campylobacter jejuni*'ye benzediğinden dolayı *C. pylori* olarak adlandırılmış ve *Campylobacter* cinsine dahil edilmiştir. Daha sonra yapılan moleküler çalışmalarla bu bakterinin *Campylobacter* cinsine ait olmadığı ortaya konulmuş ve helikal yapısından dolayı bu bakteri "*Helicobacter*" olarak adlandırılıp yeni bir cins içerisinde ele alınmıştır (Balcılar 2009).

1.2. Sınıflandırma ve Morfoloji

Helicobacter türleri insan ve çoğu hayvan türlerinin mide, barsak ve nadir de olsa karaciğerinde kolonize olabilen mikroorganizmalardır (Maurer ve ark. 2005). Helikobakterler genellikle enterohepatik ve gastrik olmak üzere iki grup altında sınıflandırılırlar. Gastrik Helikobakterler, insan, kedi, köpek, buzağı, çita, maymun, dağ gelinciği, balina ve yunus balıklarının midelerinde kolonize olurken Enterohepatik Helikobakterlerin ise çoğunlukla, fare, rat ve hamsterlerin intestinal mukozası ile karaciğerlerinde kolonize olduğu belirtilmiştir (Coldham ve ark. 2011, Fox ve ark. 1994).

Helikobakterler ayrı cins altında sınıflandırıldığından beri gerek enterohepatik ve gerekse gastrik yaklaşık 23 türü belirlenmiş ancak bazı tür isimleri henüz geçerlilik kazanmamıştır. Gastrik Helikobakter türlerinin bulunduğu hayvan türü, yerleştikleri organ ve oluşturduğu hastalıklar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gastrik *Helicobacter* türlerinin buldukları hayvan türü, yerleştikleri organ ve oluşturdukları hastalıklar (Bento-Miranda ve Figueiredo 2014).

Gastrik Helikobakter Türleri	Buldukları Canlı Türü	Yerleştiği Organ	Oluşturduğu Hastalıklar
<i>H. pylori</i>	İnsan, Kedi	Mide	Gastritis, Peptik- Duodenal Ülser
<i>H. felis</i>	Kedi, Köpek, İnsan	Mide	Gastritis
<i>H. heilmannii</i>	Kedi, Köpek, İnsan, Primat, Tilki, Vaşak	Mide	Gastritis
<i>H. mustelae</i>	Dağ Gelinciği, Sansar	Mide	Gastritis
<i>H. acinonyx</i>	Çita	Mide	Gastritis
<i>H. nemestrinae</i>	Makak	Mide	Kommensal
<i>H. suis</i>	Domuz ve insan dışı primatlar	Mide	Gastritis
<i>H. bizzoernii</i>	Kedi, Köpek, Tilki, Vaşak	Mide	Gastritis
<i>H. salomonis</i>	Kedi, Köpek, Tavşan	Mide	Gastritis

1.2.1. *Helicobacter pylori*

Gram- negatif, S şekilli veya kavisli basil görünümlü, 0.5-0.9 µm eninde 2-4 µm boyunda olan bakterilerdir. Kanlı agarda yapılan kültürde spiral şekilli *H. pylori*'nin düz basil formunda daha az görüldüğü rapor edilmiştir. Hücreler, bazı kültürlerden hazırlanan preperatlarda hareketsiz görünmesine rağmen aktif hareketlidir. *H. pylori*'nin kültür ve *in vivo* koşullarda, V, kıvrımlı ya da U şeklinde görüldüğü de rapor edilmiştir. *H. pylori*'nin kanlı agarda yapılan ilk kültüründe 37°C'de genellikle 3-5 günde 1-2 mm çapında yarı saydam şeffaf ya da gri görünümü koloniler görülür. Kanlı agarda gri koloniler çevresinde hafif hemoliz oluştururlar. *H. pylori* 2.0 µm eninde 4.0 µm boyunda, 4-5 adet flagellaya sahip olup flagella bakterinin bir kutbunda toplanmıştır (Jiang ve ark. 1996).

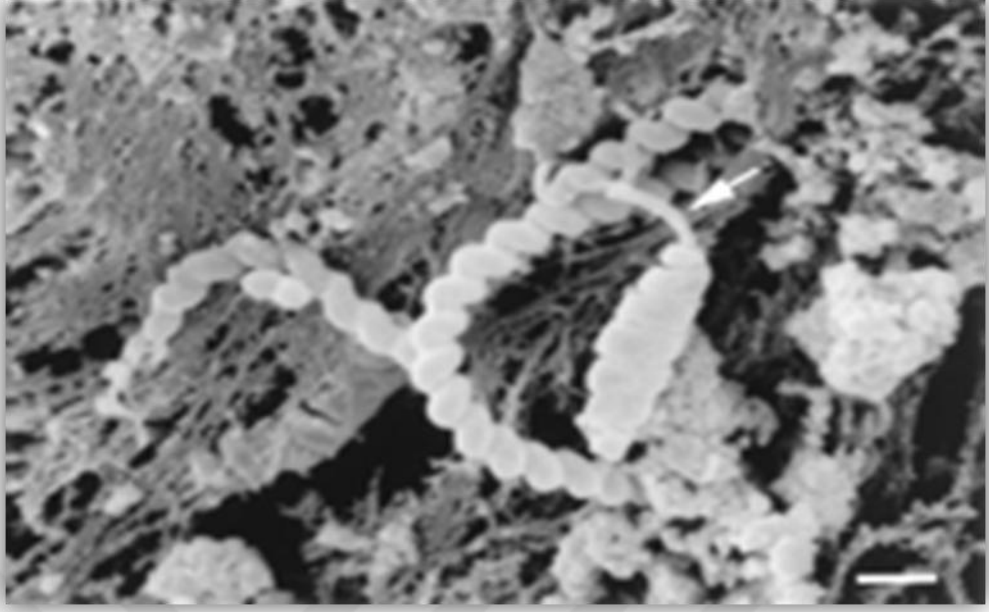
Daha eski kültürlerde, *H. pylori* morfolojik olarak basil formdan kokoid forma dönüşerek kültüre edilebilir özelliğini büyük ölçüde kaybeder. *H. pylori*'nin bu dormant formu çevresel etkilere ve sıcaklığa karşı çevresel adaptasyonda oluşturduğu bir tepkidir (Owen 1998).

Tablo 2. Gastrik Helikobakter türlerinin morfolojik yapısı (Owen 1998).

Türler	Hücre Boyutu (µm)	Periplazmik fibril	Flagella sayısı	Flagella Konumu	Flagellar Kılıf
<i>H. pylori</i>	2.0-4.0	-	4-5	Polar	+
<i>H. acinonyx</i>	2.0-5.0	-	2-5	Polar	+
<i>H. mustelae</i>	2.0-5.0	-	4-8	Peritrik	+
<i>H. nemestrinae</i>	2.0-5.0	-	4-8	Polar	Kesinleşmemiş
<i>H. suis</i>	1.5-5.2	-	>6	Bipolar	+
<i>H. heilmannii</i>	3.5-7.5	-	12	Bipolar	+
<i>H. felis</i>	5.0-7.5	+	14-20	Bipolar	+
<i>H. bizzoernii</i>	5.0-10.0	-	10-20	Bipolar	+

1.2.2. *Helicobacter heilmannii*

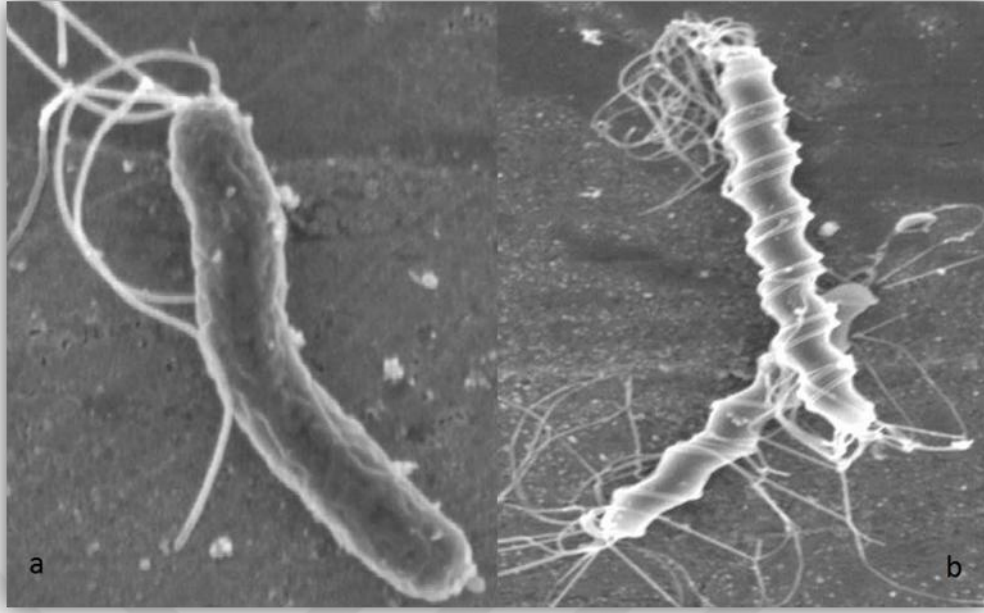
İnsanlarda kronik gastrite neden olan *H. heilmannii* ilk olarak “*Gastropirillum hominis*” olarak isimlendirilmiş ve birçok kaynakta kültüre edilemediği rapor edilsede az sayıda bilimsel makalede kültüre edilebildiği rapor edilmiştir. *H. heilmannii* morfolojik olarak helikal yapıya sahip, 3.5-7.5 µm uzunluğunda ve 0.9 µm çapındadır. 28 nanometre çapında 12 adet flagelleya sahip olup flagella bipolar konumlanmıştır (Manno ve ark. 2005). *H. heilmannii*'nin kanlı agar besi yerinde koloni morfolojisi yönünden tipik *H. pylori* ile aynı olduğu belirtilmiştir (Fawcett ve ark 1999).



Şekil 1. *H. heilmannii* elektron mikroskop görüntüsü (Norris ve ark. 1999).

1.2.3. *Helicobacter felis*

Helikal biçimli bu Gastrik Helikobakter türü kedi, köpek ve insanların midelerinde kolonize olabilmektedir. *H. felis* kompleks bir helikal yapıya sahip olup her bir hücre iki kutbunda 14-20 adet flagellaya sahiptir. Hücre yapısının bir çift periplazmik fibrille sarılı şekliyle karakterize olduğu bildirilmiştir. *H. pylori*'den daha az ya da daha fazla helikal bir yapıya sahiptir. Morfolojik olarak *H. heilmannii*'ye benzese de periplazmik fibril yapısıyla *H. heilmannii*'den ayrılır (Owen 1998). Gastrik Helikobakter türlerinin morfolojik yapısı Tablo 2'de ve *H. felis*, *H. pylori* ve *H. heilmannii*'nin elektron mikroskopik görüntüsü Şekil 1 ve Şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil 2. a. *H. pylori*. b. *H. felis*'in elektron mikroskobu görüntüsü (www.endoscopyveterinaria.com.br).

1.3.1. Gastrik Helikobakterlerin Epidemiyolojisi

Helicobacter pylori'nin dünya insan nüfusunun yaklaşık yarısını infekte ettiği ancak bu oranın coğrafya, sosyo-ekonomik faktörler, ülkelerin gelişmişlik durumu, yaş ve etnisiteye göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Malaty ve Graham 1994, Hunt ve ark. 2011). Genel olarak *H. pylori*'nin gelişmiş ülkelerdeki prevalansının gelişmekte olan ülkelerdeki prevalansına oranla daha düşük olduğu, örneğin Çin'de yaşayan insanlarda Avusturalya'da yaşayan insanlara nazaran prevalansın daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Mitchel 2001). Gastrik Helikobakterlerden *H. pylori* insanda kolonize olabilen en yaygın patojen olarak ifade edilmekle birlikte diğer Gastrik Helikobakterlerin de insanlarda gastrik hastalıklara yol açabildiği özellikle *H. heilmannii*'nin zoonotik karakter taşıdığı ve doğal olarak kedi ve köpeklerin midesinde kolonize olabildiği vurgulanmıştır (Joosten ve ark. 2016). Avrupa'nın güney ülkelerinde *H. pylori* prevalansının kuzey ve doğu ülkelerine oranla daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Hollanda'da Avrupalı olmayan göçmenler çalışmaya dahil edilmeyerek 1500 farklı bölgelerden olan ve rastgele seçilmiş kan vericisine ait örneklerde *H. pylori* infeksiyonunun prevalansı ve CagA antijen varlığı araştırılmış

ve değerlerin sırasıyla %32 ve %28 olduğu tespit edilmiştir. Doğu Avrupa ile Türkiye arasında da benzer bir durumun olduğu ve *H. pylori* infeksiyonunun prevalansının ülkemizde hayli yüksek bulunduğu (%82.5) bilinmektedir. *H. pylori*'nin kedilerin midesinde de kolonize olabildiği ancak bulunma oranının diğer Gastrik Helikobakterlere oranla çok düşük olduğu bildirilmiştir (Goh ve ark. 2011).

Gastrik Helikobakter türleri içerisinde en çok *H. pylori* insan midesinde kolonize olarak gastrit, kronik ülser ve mide kanserine sebep olabilen yaygın patojenlerden biridir (Alm ve ark. 1999, Josteen ve ark. 2016, Simpson ve ark. 2000, Fallone ve ark. 2016). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *H. pylori* dışında diğer Gastrik Helikobakter türlerinin de insanları infekte edebildiği ve *H. pylori*'ye benzer şekilde hastalıklara yol açabildiği bildirilmiş (Haesebrouck ve ark. 2009), özellikle *H. felis* ve *H. heillmannii*'nin kedi, köpek ve insanların midesinden izole ve identifiye edilmesiyle bu türlerin zoonotik olup olmadığı çeşitli bilimsel makalelerde tartışılmıştır (Okiyama ve ark 2005, Fox 2002). *H. felis*'in infeksiyon insidansının genel olarak insanlarda düşük olmasına rağmen, Avrupa'lılarda PCR yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada bu oranın %8.9 oranında olduğu bildirilmiştir (Fritz ve ark. 2006). Rasmussen ve ark. (2012), 62 yetişkin dispepsili hastanın (27 erkek 35 kadın) salya, dental plak ve mide antral biyopsi rneklelerinin histolojik olarak ve PCR ile değerlendirilmesi sonucu, histolojik muayene ile hastaların %72.6'sının kronik gastritli, %27.4'ünün normal gastrik mukozaya sahip olduğu belirlenirken, PCR ile 62 dental plak örneğinin 29'u, salya rneklelerinin ise 26'sının *H. pylori* pozitif bulunduğunu ve *H. pylori*'nin oral boşlukta kolonize olabileceğini belirtmiş, mide ile ilgili rahatsızlıklarla *H. pylori*'nin oral boşlukta kolonize olması arasında bir ilişki olabileceğini vurgulamışlardır. Midenin kronik Helikobakter infeksiyonlarının gastro-duodenal hastalıkların gelişmesinde büyük bir risk teşkil ettiği anlaşılmıştır. Çin'in kırsal kesiminde 5-6 yaş arasındaki çocuklarda yapılan çalışmada *H. pylori* ile infeksiyon oranı yaklaşık %70 bulunmuş ve infeksiyonun çoğunlukla bu yaş arası meydana geldiği rapor edilmiştir. Gelişmiş ülkelerde, yetişkin insanlarda yıllık serokonversiyon oranının gelişmemiş ülkelere oranla daha az gerçekleştiği ve yaklaşık %0.2-1.0 oranında olduğu rapor edilmiştir (Brown 2000).

Gastrik Helikobakterlerin çeşitli hayvanların gastrik mukozasındaki kolonizasyonu sıklıkla araştırılmış, *H. pylori*'nin aksine *H. heilmannii*'nin doğal olarak kedi ve köpeklerin midelerinde daha fazla kolonize olduğu bildirilmiştir. Mide biyopsi örneklerinden yapılan çalışmalarda *H. heilmannii*'nin klinik belirti gösteren kedi ve köpeklerde bulunma oranının %90-100 arasında olduğu belirtilirken, klinik belirti göstermeyen kedilerde bu oranın %57-100 arasında olduğu bildirilmiştir (Handt ve ark. 1994). Gastrik Helikobakter türlerinden *H. heilmannii*'nin insanlarda çeşitli gastrik hastalık tiplerinden sorumlu olduğu ancak insan mide biyopsilerinden yapılan çalışmalarda, insan midesinde %0.2-2.4 oranları arasında bulunduğu rapor edilmiştir (Van den Bulck ve ark. 2005). Kedi veya köpek besleyen 12-39 yaş arası dispepsili 250 hastadan alınan biyopsi örneklerinin PCR ile değerlendirilmesi sonucu hastaların 167'sinde Gastrik Helikobakter DNA'sının varlığı rapor edilmiştir (Yakoob ve ark. 2012).

Sağlıklı kedilerin mide biyopsi örneklerinden yapılan çalışmalarda *H. felis*'in bulunma oranının çok düşük olduğu (%1-2) bildirilmiştir (Norris ve ark. 1999). İsviçre'de yapılan bir çalışmada kedilerin mide biyopsi örneklerinde Gastrik Helikobakter türlerinden sadece *H. heilmannii*'nin tanımlendiği bildirilmiştir (Nieger ve Simpson 2000). Gastrik Helikobakter türlerinin araştırıldığı diğer bir çalışma ise USA'da gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 36 kedi midesinden alınan biyopsi örneklerinin PCR yöntemi ile araştırılması sonucu örneklerden 18/36 *H. heilmannii*, 6/36 *H. felis*, 2/36 *H. bizzozeronii* tanımlendiği geri kalan 10 kediden ise tanımlenemeyen Gastrik Helikobakter türlerinin belirlendiği bildirilmiştir (Nieger ve Simpson 2006).

Sağlıklı kedilerin mide biyopsi örneklerinden 16S rRNA genini hedef alan primerler kullanılarak yapılan PCR bulgularında Gastrik Helikobakterlerin bulunma oranının %41-100 olduğu, klinik belirti gösteren kedilerde ise bu oranın %57-100 olduğu belirtilmiştir (Khosnegah ve ark. 2008).

1.3.2. Gastrik Helikobakterlerin Bulaşma Yolları

Gastrik Helikobakter türlerinin bulaşma yolları henüz tam olarak anlaşılammakla beraber (van Duynhoven ve de Jonge 2001), en yaygın kabul gören bulaşma yolları, oral-oral, fekal-oral ve gastrik-oral yol olarak ortaya konmaktadır. Ancak son zamanlarda giderek artan sayıda bilimsel makalede *H. pylori*'nin, gıda ve evcil hayvanlar gibi dış çevreden de izolasyonu-identifikasyonu rapor edilmektedir. Bazı epidemiyolojik çalışmalar *H. pylori*'nin kaynağının içme suları olup olmadığını veya içme sularıyla olan ilişkisini tartışmıştır (Guimarães ve ark. 2014, Adams ve ark 2003).

Birçok çalışmada bu bakterilerin başlıca bulaşma yollarının çevresel kaynaklardan daha çok bireyler arası olduğu düşünülmektedir. Ebeveynler arası bulaşmanın daha sık olduğu rapor edilmekle beraber aynı evde yaşayan yakın akrabalar arasında bulaşmanın olduğu da rapor edilmiştir (Leonardo ve ark. 2014). Osaki ve ark. (2015), yaptıkları bir çalışmada çocuklu üç aileden alınan dışkı örneklerinin PCR yöntemiyle araştırılması sonucu *H. pylori*'nin aile içi ve anneden çocuğa bulaşma oranının en az üçte iki oranında olduğunu belirtmişlerdir. Urita ve ark. (2013), Japonya'da geleneksel aile yapısıyla yaşayan 838 çocuk üzerinde yaptığı çalışmada *H. pylori* varlığının 101 çocukta pozitif olduğunu (%12.1) belirtmişler ve bulaşmanın çocukların anne ve büyük annelerinden kaynaklandığını ancak baba ya da büyük babalarından bulaşmanın olmadığını ifade etmişlerdir. Bulaşmanın sebebinin çocukların ebeveynleri uzaktayken günlük bakımının büyük anneleri tarafından üstlenilmesi ve çocukların yemeklerini kontrol amacıyla aynı kaşığı kullanması üzerinde vurgu yapılmıştır.

Gastrik Helikobakter türlerinin farklı hayvan türlerine karşı değişik affinite gösterdikleri belirtilmiş olup *H. pylori*'nin, kedi ve insanların midelerinde, *H. felis*'in, kedi, köpek ve insanların midelerinde, *H. heilmannii*'nin ise kedi, köpek, insan, tilki ve vaşakların midelerinde kolonize olabildiği çeşitli bilimsel makalelerde gösterilmiş olup bu türlerin zoonotik risk teşkil edebileceği de tartışılmıştır (Jalava ve

ark. 2001). Ayrıca *Helicobacter accinonyx*'in çitalarda, *Helicobacter mustelae*'nin gelinciklerde gastrit ve gastrik ülsera yol açtığı bildirilmiştir (Simpson ve ark. 2000).

Bazı bilimsel çalışmalarda dışkıdan *H. pylori*'nin kültüre edildiği belirtilmesine rağmen birçok araştırmada ise dışkıdan kültürün oldukça güç olduğu, PCR tekniği ile dahi dışkıdan Helikobakter türlerinin identifikasyonunun her zaman başarılı olamadığı ve bunun sebebinin dışkıda PCR'ı etkileyen inhibitörlerin varlığı olabileceği belirtilmiştir. Gastrik Helikobakter türlerinin az sayıda da olsa dışkıdan kültür, PCR ve diğer tekniklerle varlığının ortaya konmasının fekal-oral bulaşı muhtemel kılabilceği üzerine vurgu yapılmıştır (Megraud ve Broutet 2000). Gröbel ve ark. (1997), 100 sinek üzerinde yaptığı deneysel çalışmada sineklerin eksternal yüzeyinden *H. pylori* kültüre ettiklerini belirtmiş, sineklerin *H. pylori*'nin vektörü olabileceğinin ve bunun muhtemel fekal-oral bulaşı desteklediği üzerinde durmuşlardır. Ancak Ossato ve ark. (1998), ise *H. pylori* ile infekte insanların dışkısına konduğu bilinen 40 grup sinekten yapılan izolasyon çalışması sonucunda hiçbir sinekten *H. pylori* kültüre edilemediğini bu nedenle sineklerin *H. pylori* bulaşında bir vektör ya da infeksiyon kaynağı olamayacağını bildirmişlerdir. Gastrik Helikobakterlerin fekal-oral bulaş yolunun halen tartışılmakta olduğu ancak salya ya da dental plak örneklerinden Gastrik Helikobakterlerin kültüre edilebilmesinin muhtemel oral-oral bulaş yolunu desteklediği bildirilmiştir (Megraud ve Broutet 2000).

1.4.1. Virulans Faktörleri

Gastrik Helikobakterler çeşitli hayvanların midelerine kolonize olmakta yüksek bir yeteneğe sahiptir. Bu bakterilerin gastrit, kronik gastrit, mide kanseri ve ülser gibi birçok hastalığa yol açtığı bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur (Beckert ve ark. 2011). Gastrik Helikobakterlerin virulans faktörleri; kolonizasyon faktörleri ve doku hasarına yol açan faktörler olmak üzere iki gruba ayrılır (Kara 2008).

1.4.1.1. Kolonizasyondan Sorumlu Faktörler

Gastrik Helikobakterlerin kolonizasyondan sorumlu faktörleri; flagella, üreaz ve adhezyondan sorumlu faktörler olarak sınıflandırılmaktadır (Balcılar 2009).

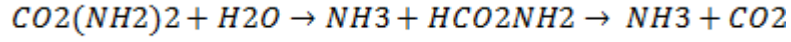
1.4.1.1.1. Flagella

Gastrik Helikobakter türlerinde flagella varlığı kolonizasyonda önemli bir yere sahiptir. Bu bakteriler kıvrımlı morfolojisi ve flagella yardımıyla midenin mukus tabakasında kolayca hareket edebilmektedir. *H. pylori* hareket ve mide mukozasında sürekli kolonize olmasını sağlayan *flaA* ve *flaB* genleri tarafından kodlanan iki flagellin proteinine sahiptir (Cellini ve Donelli 2016).

Hayvan modellerinde yapılan farklı deneysel çalışmalar, Gastrik Helikobakter türlerinin flagellar motilitesinin midenin mukozasındaki kolonizasyonu için önemli olduğunu göstermiştir. *H. pylori*'nin, üre, aminoasit ve bikarbonata karşı hareketine ilaveten düşük pH'tan uzaklaşmasının da midede kolonize olabilmesi için önemli olduğu bilinmektedir. Flagella hareketinin pH derecesine duyarlı olduğu ve pH'ın 4.1'in altında olduğu durumlarda flagellar hareketin durduğu belirtilmiştir (O'Toole ve Lane 2000).

1.4.1.1.2. Üreaz

Gastrik Helikobakter türlerinin üreaz aktivitesi önemli bir virulans faktörüdür. Midede kolonize olabilmek ve üreyi amonyağa dönüştürebilmek için iki subüniteden oluşan (*üreaz A* ve *üreaz B*) bir gen familyasına sahiptir. Aside dirençli olmayan Gastrik Helikobakterler sahip oldukları üreaz enzimi sayesinde üreyi parçalayarak amonyak oluştururlar ve oluşan nötr ortam çeşitli hayvanların midesinde yaşamasına olanak sağlar. Gastrik Helikobakterlerin üreaz aktivitesi Şekil 3'te gösterilmiştir. Üreaz aktivitesi sonucu açığa çıkan amonyak mide mukozasındaki hücreler arası bağları kopararak mide mukozasının hasar görmesine sebep olur. Gastrik Helikobakterlerin üreaz ekspresyonu ve enzim aktivitesi, çevresel pH ve kofaktör olarak kullanılan nikel bağli karmaşık bir yapıya sahiptir (Belzer ve ark. 2005).



Şekil 3. Gastrik Helikobakterlerin üreaz aktivitesi

Gastrik Helikobakter türlerinden *H. pylori* kuvvetli bir üreaz aktivitesine sahiptir ve üreaz üretiminin bakterinin sahip olduğu üreaz ihtiva eden proteinlerin %10'undan fazla olduğu tahmin edilmektedir. Aktif üreaz, altı UreA, altı UreB ve kofaktör olarak oniki Ni⁺² iyonu içerir. 27-kDa ve 62-kDa üreaz subüniteleri sırasıyla *UreA* ve *UreB* genleri tarafından kodlanır ve bunları *UreIEFG* operon kodlayıcı yardımcı proteinler izler. *UreEFGH* yardımcı proteinleri üre aktivasyonu ile ilişkili olarak *UreI* proteinleri asit aktivasyonu ve üre transportuyla ilişkilidir (van Vliet ve ark. 2002). Gastrik Helikobakterlerin üreaz aktivitesi Şekil 3'te gösterilmiştir.

1.4.1.1.3. Adhezyon Sağlayıcı Faktörler

Gastrik Helikobakterler diğer birçok patojen gibi hücre ya da dokuya özgü tropizm gösterir. Bu bakterilerden *H. pylori* mide mukozasına tutunabilmek için en az 5 farklı adhezin kullanır. Bu adhezinlerden HpsA, dış membran proteinleri ve flagella kılıfından identifiye edilmiştir. Son yapılan araştırmalarda *H. pylori*'nin dış membran yapısında adhezyon faaliyetinden sorumlu 20 farklı lipoprotein identifiye edildiği belirtilmiştir. Dış membran proteinlerinde yer alan Lewis doku- kan grubu antijenleri ve bu antijenlere yakın olan diğer antijenlerin de adhezin olarak rol alabildiği belirtilmiştir (Tomb ve ark. 1997).

1.4.1.2. Doku Hasarından Sorumlu Faktörler

Helicobacter pylori'nin insan midesinde kolonize olabildiği ve midede çeşitli doku hasarlarına yol açabildiği yapılan bilimsel araştırmalarda gösterilmekle beraber Gastrik Helikobakterlerin diğer türlerinin de hem insan hem de çeşitli hayvanların midelerinde kolonize olabildiği, gastrit, ülser, peptik ve doudenal ülser ve MALT lenfomaya neden olabildiği belirtilmiştir. Gastrik Helikobakterlerin doku hasarından sorumlu birçok virulans faktörü bulunmaktadır. Doku hasarından sorumlu virulans

faktörlerin en önemlileri; tiyoredoksin, gen A ilişkili sitotoksin (CagA), vakuolize edici sitotoksin (VacA) gibi toksinler ve dış yangı proteini (oipA) ve epitel indüklü protein (iceA)'dir (Torkan ve Shahreza 2016).

1.4.1.2.1. Gen A İlişkili Sitotoksin (CagA)

Gen A ilişkili sitotoksin (CagA), patojenik ada genleri tarafından kodlanan bir proteindir (Censini ve ark. 1996). CagA patojenik ada geninin son segmenti tarafından kodlanan ve 120-140 kDA büyüklüğünde olup en iyi bilinen virulans faktörlerden birisidir. *H. pylori* suşlarının yaklaşık %70'inde CagA proteininin üretildiği ancak bu oranın coğrafik bölgelere göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Japonya, Kuzey Kore ve Çin gibi Doğu Asya ülkelerinde bu oranın %90-95 olduğu bildirilirken, İngiltere, Avusturalya ve A.B.D.'de bu oranın %40 larda olduğu bildirilmiştir. CagA konakçı hücrelerine salındığında hücrelerin bağlanma yerlerindeki proteinlerin fosforilasyonuna neden olur. CagA proteininin varlığı çeşitli hastalık formlarıyla ilişkilendirilmektedir. *H. pylori* ile enfekte olmuş mide kanserli hastalardan izole edilen *H. pylori* suşlarının %50'sinden fazlasının CagA proteini ihtiva ettikleri bildirilmiştir. Moğolistan gerbillerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda 12 haftada gastrik kanserin geliştiği de bildirilmiştir (Jones ve ark. 2010).

1.4.1.2.2. Lipopolisakkaritler

Lipopolisakkaritler (LPS), Gram negatif bakterilerin patojenitesinden sorumlu dış membranın majör komponentlerindedir. Endotoksin olarak güçlü bir enflamatuar indükleyici olduğu bildirilmiştir. Gastrik Helikobakterlerde LPS'lerin endotoksin aktivitesi diğer Gram-negatif bakterilerden çok daha düşüktür. Diğer Gram negatif bakterilere benzer şekilde Gastrik Helikobakterlerin LPS'leri, lipit A, oligosakkarit ve O-polisakkarit olmak üzere üç bölgeden oluşur. Zayıf endotoksik aktivite lipit A oranının kimyasal yapısından kaynaklanır (Yokota ve ark.2011).

Helicobacter pylori'nin içerdiği Lewis antijenleri insan hücreleri tarafından üretilen glikan yapıyı taklit eder (Appelmelk ve ark. 1996) Lewis antijenlerinin insan

dendritik hücreleriyle etkileşimi bakterinin kamuflejimini sağlayarak konak midesinde yaşamasına olanak sağlar. *H. pylori*'nin LPS'leri immün sistemden kaçışta ve çapraz reaksiyon veren antikorların üretilmesiyle otoimmünitenin başlatılmasında rol oynarlar. LPS'lerde ki O-polisakkaritlerde Lewis-x ve Lewis-y antijen varlığının, daha güçlü mide yangısal hastalıklarıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Hug ve ark. 2010).

1.4.1.2.3. Lökosit Aktive Edici Faktörler

Gastrik Helikobakter türlerinden *H. pylori* infeksiyonu insan mide mukozasında nötrofil ve monositleri indükler. Bakterinin hücre duvarında LPS' haricinde bulunan subkematik protein ve immunolojik aktif porinler sayesinde monosit ve nötrofiller aktive olurlar (Sarıtaş 2009). *H. pylori* nötrofil aktive edici proteininin (HP-NAP) gerçekte nötrofilleri aktive edici bir protein olarak tanımlanmış olması yanı sıra son çalışmalarda bakteri DNA'sını hasardan koruyucu bir rol de üstlendiği rapor edilmiştir (Fu 2014).

1.4.1.2.4. Vakuolize Edici Sitotoksin (VacA)

VacA sitotoksini *H. pylori*'de *VacA* geni tarafından üretilen, konakçı epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve hücre ölümlerine neden olan önemli virulans faktörlerden biridir. VacA toksini üreten *H. pylori* suşlarıyla gastrit oluşumu arasında korrelasyon olduğu bildirilmiştir. VacA'nın immünsupresif aktivitesi B ve T-hücrelerinin aktivasyon ve proliferasyonunu inhibe eder (Kim ve ark. 2007).

Yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin tüm suşlarının *VacA* genine sahip ve açık okuma alanlarının (open reading frame, ORF) bozulmamış olduğu gösterilmiştir. *H. pylori* suşlarının çoğunda yapılan filogenetik çalışmalarda *VacA* allellerinin coğrafik bölgelere göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Gangwer ve ark. 2010). *VacA* gastritik epitel hücre kültürüne eklendiğinde hücre otofajını indüklediği ancak bu olgunun membran kanalların formuna bağlı olduğu bildirilmiştir. VacA toksini epitel hücre kültürüne eklendiğinde, klorid, üre, bikarbonat gibi anyonların ve diğer küçük moleküllerin ekstraselüler boşlukta salınımının gözlemlendiği ve plazma membran

permeabilitesini arttırdığı belirtilmiştir. VacA toksini üzerine yapılan hayvansal deneylerde, VacA toksininin kolonizasyon için gerekli olmadığı halde mutant *H. pylori* suşlarının domuz ve farelerin de midesinde kolonize olabildiği belirtilmiştir. VacA'nın insan midesinde ülserasyonu yükselttiği ve hastalık şiddetini artırdığı belirtilmiştir (Foegeding ve ark. 2016).

Gastrik Helikobakterlerde virulans faktörleri türlere göre değişebildiği gibi aynı türün farklı suşlarında da değişkenlik gösterebilir. *H. heilmannii*'nin farklı suşlarında yapılan deneysel araştırmalarda, diğer Gastrik Helikobakterlerde bulunan gibi bir VacA'nın olmadığı ancak VacA'ya benzer yapıları barındırdığı ve bunun da Gastrik Helikobakter türlerinin mide mukozasında meydana getirdiği farklı hastalık şiddetini açıkladığı belirtilmiştir (Joosten ve ark. 2016).

1.4.1.2.5. Tiyoredoksin

Tiyoredoksin düşük moleküler kütleli bir protein olup çeşitli doku ve canlı türlerinde bulunur. Memelilerde Tiyoredoksin'nin, Trx1, Trx2 ve spTrx olmak üzere üç farklı formunun tanımlandığı bildirilmiştir (Hashemy 2011). Gastrik Helikobakterler (*H. pylori* ve *H. felis*) sahip olduğu thioeredoxin enzimi sayesinde proteinlerdeki disülfid bağları kopararak denatüre eder. Tiyoredoksin sayesinde *H. pylori*, mukus tabakası içerisindeki mucusları ve konakta sekrete edilen spesifik ve nonspesifik Ig'leri (IgA, IgG ve IgM) denatüre ederek immün savunmadan korunurlar. Yapılan bilimsel araştırmalarda, Tiyoredoksin1'in (Trx1) çeşitli enflamatuar şartları indüklediğini ve sitoprotektif bir yapı gösterdiği belirtilmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda Trx1'in aşırı ekspresyonu sonucu *H. felis*'in, oksidatif stres ve nötrofillerin kemotaksisini inhibe ederek gastriti indüklediği belirtilmiştir (Kawasaki 2005).

1.4. Biyokimyasal Özellikleri

İlk olarak *H. pylori*'nin kültüre edilmesiyle, bu bakterinin çeşitli enzimatik faaliyetleri araştırılmış ve bu faaliyetler daha sonra Gastrik Helikobakterlerin tanısında

kullanılmıştır. Gastrik Helikobakterler karbonhidratları oksidatif ve fermantatif yolla parçalayamaz. İndol formasyonu ve nitrat redüksiyonu negatiftir (Polat ve Köksoy 2015). Gastrik Helikobakterler güçlü bir üreaz, oksidaz ve katalaz aktivitesine sahip olup; üreaz, oksidaz ve katalaz pozitifdir. Alkalen fosfataz, asit fosfataz ve glutamiltrans peptidaz faaliyetleri pozitif olan *H. pylori*'nin esterez, fosfohidrolaz ve lösinarilamidaz aktivitesine göre 4 farklı biyotipin olduğu belirtilmiştir (Anđ-Küçüker ve Özmutlu 1992).

1.5. Kültürel Özellikleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları

Gastrik Helikobakterler uygunsuz çevre koşullarına duyarlı olup oda sıcaklığında canlılığını çabuk kaybederler (Tomb ve ark. 1997). Bu nedenle Gastrik Helikobakterlerin çevrenin uygunsuz koşullarından korunması ve kültürlerinin yapılabilmesi için en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılması ve hızla ekimlerinin yapılması gerekmektedir. Gastrik Helikobakter türlerinin kültüre edilmesinin iki büyük avantajı vardır. Birincisi antimikrobiyal duyarlılık testlerine olanak vermesi, ikincisi kültüre edilen türlerin detaylı bir şekilde türlerin tanımlanmasına olanak vermesidir (Miftahussurur ve Yamaoka 2016). Gastrik Helikobakter türleri invitro koşullarda çok yavaş üreyen, mikroaerofilik bakterilerdir. İlk kültürde optimum gelişime ulaşmaları ortalama 5-7 gün sürebilir. Sonraki pasajlarda optimal gelişim 1-2 günde gerçekleşir (Thomas ve Blanchard 2006). İlk kültürlerinde oksijene *Campylobacter* türlerinden daha az toleranslıdır, gelişimleri için %3 ile %7 arasında oksijene ihtiyaç duyarlar. *H. pylori* mikroaerobik kit içeren ya da standart mikroaerobik koşullarda üreyebilmektedir. Birçok çalışmada Gastrik Helikobakterler için üreme ortamlarında %2 ile %5 arasında oksijen kullanılmıştır. Gastrik Helikobakter türlerinin farklı besi yerlerinde farklı şekilde gelişme gösterdiği ancak farklı atmosfer koşullarında üremesiyle ilgili sistematik bir çalışmanın olmadığı bildirilmiştir (Mobley ve ark 2001). *H. pylori*'nin kültürü için ticari olarak satılan selektif veya nonselektif besi yerlerinin kullanılabilmesi ve çoklu besiyerinin kullanılmasının sensitiviteyi arttırabileceği belirtilmiştir. Tüm Gastrik Helikobakter türlerinin başlangıçta %7 defibrine at kanlı Colombia agarda üredikleri bildirilmiştir. Gastrik Helikobakterlerin kültürü için, çikolata agar, Brucella Agar, Skirrow Agar,

Columbia Agar, Brain Heart Infusion Agar kullanılmış ancak Gastrik Helikobakterlerin en iyi %5 eskitilmiş defibrine at kanı katkılı agarda 36-37 °C’de 3-5 günde üredikleri belirtilmiştir (Anderson ve ark. 1999).

Gastrik Helikobakterler Eritromisin, Klaritromisin, Metronidazol, Penisillinler, Sefalosporinler, Streptomisin, Rifabutin, Tetrasiklin, Kanamisin, Kloramfenikol, Siprofloksasin, Levofloksasin, Bizmut tuzları ve Rifampisin’e duyarlı Trimethoprim, Vankomisin, Cefsulodin, Amfoterisin B ve Nalidiksik aside dirençlidir. Araştırmacılar kültür ortamında Gastrik Helikobakterler dışında farklı mikroorganizmaların ortamda üremesini engellemek amacıyla bu antibiyotikleri farklı karışım ve oranlarda kullanmışlardır (Mc Nulty ve ark. 1989).

1.6. Gastrik Helikobakterlere Karşı İmmun Yanıt

Helicobacter pylori’nin konakçı immün yanıtından kaçma mekanizmalarına sahip olmasına rağmen, infeksiyon boyunca immün aktivasyonu devam eder. Kronik *H. pylori* infeksiyonuna karşı gastrodoudenal yanıt; plazma hücreleri, lenfositler (T ve B hücreleri), nötrofiller, mast hücreleri ve dentritik hücreler tarafından karakterize edilir (Crabtree 1996).

Helicobacter pylori infeksiyonu IgA, IgM ve IgG izotiplerini içeren lokal ve sistemik antikorların oluşmasına sebep olur. *H. pylori* infeksiyonu, plimorfonükleer ve mononükleer hücrelerin inflamatuvar reaksiyonuna yol açar ve gastrik mukozası enfekte hastalarda, proinflamatuvar sitokinlerin; IL-1 (interlökin-1), IL-8, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) seviyelerinin artmasına sebep olur. *H. pylori*’ye ait proteinler midenin lamina propriyasında çalışılmış ve varlığı gösterilmiş olmasına rağmen, *H. pylori* noninvazif bir patojendir ve birincil olarak ekstraselüler mukus tabakasında varlığını devam ettirir (Chu ve ark. 2000). İlk başta *H. pylori* infeksiyonuna karşı oluşturulan konak immün yanıt genellikle polimorf yanıttır. *H. pylori*’nin akut infeksiyonu insanlarda çok nadir rastlanmasına rağmen bazı bilimsel makalelerde güçlü bir nötrofil yanıtına sebep olduğu bildirilmiş ve hem selüler hem de humoral immün yanıtı indüklediği çeşitli bilimsel makalelerde ortaya konulmuştur

(Bodger ve Crabtree 1998). *H. pylori* kolonize olduğu konakta doğal ve kazanılmış immun yanıt mekanizmalarını indükler ve aynı zamanda infeksiyon sonucu konakta özgül antikör oluşumu, makrofaj, lenfosit infiltrasyonu ve gastrik mukozaya nötrofil salınımı meydana gelir (Demiray ve Bekmen 2008).

Helicobacter pylori'ye karşı doğal immun yanıtın oluşmasında ve mukozanın yüzeyinde temas halinde olan bakteriye karşı sinyallerin üretiminde makrofajlar önemli bir rol oynarlar. Makrofaj ve monositler, *H. pylori* gibi patojenlere karşı immun yanıtın oluşturulmasında dentritik hücrelerle beraber önemli koordinatör görevinde rol alırlar. Makrofajların *H. pylori* ya da *H. pylori* komponentleriyle etkileşimi sonucu çeşitli sitokin ve kemokinlerin sekrete edilmesi gerçekteşir. *H. pylori*'nin makrofajlar tarafından fagosite edilmesi proteinkinaz C (PKC) ihtiva eden fagozomlarla lokalizasyonuna bağlıdır (Algood ve Cover 2006). PKC solunumsal patlama (respiratory burst) ve fagozom lizozom füzyonunda rol oynar. *H. pylori*'nin in vivo ya da in vitro fagositoz mekanizması tarafından tam olarak kontrol edilemediği ve öldürme işleminin yalnızca nötrofillerin çok miktarda olduğu durumlarda gerçekteşebildiği belirtilmiştir (Demiray ve Bekmen 2007).

Mast hücreleri sitoplazmalarında çok sayıda granül bulunduran ve kemik iliği tarafından üretilip genelde alerjik durumda meydana gelen immun yanıtta rol oynarlar (KC ve Amatya 2011). Yapılan deneysel çalışmalarda tüm *H. pylori* suşlarının ve çeşitli komponentlerinin mast hücrelerini aktive ettiği bildirilmiştir. *H. pylori*'nin mast hücrelerini aktive eden faktörlerden birisinin VacA olduğu bildirilmiştir. VacA mast hücrelerinin kemotaksisini indükleyebilir ve IL-1, TNF, IL-6, IL-13, IL-10 gibi proinflamatuvar sitokinleri indüklediği belirtilmiştir (Montemmuro ve ark. 2002).

Dentritik hücreler, gastrointestinal mukozayı da kapsayan dokularda yaygınca bulunan antijen sunan hücrelerin bir grubudur. MALT içindeki immatur dentritik hücreler fagositiktir ve antijenleri yakalama konusunda özelleşmişlerdir. Dentritik hücreler primer immun yanıtta antijen sunan hücreler olarak tanımlanmıştır (Mitchell ve ark. 2007). *H. pylori* dentritik hücrelerin sitokin ekspresyonunu (IL-6, IL-8, IL-10,

IL-12) stimüle eder (Guiney ve ark. 2003). Dentritik hücrelerin tek katlı epitelial tabakada in vitro ve intestinal bariyerde in vivo ortamda bakterileri direkt olarak yakaladığı bilinmekte ancak bu olayın *H. pylori* için henüz kanıtlanamadığı belirtilmiştir. Dentrik hücrelerin T hücrelerine antijen sunumu yanında T hücrelerinin aktivasyonu artırıcı bir rolü de vardır. *H. pylori* dentritik hücrelerin Toll Benzeri Reseptör (TLR, Toll Like Receptor) leri yoluyla etkileşerek sitokinlerin üretimine yol açar (Moyat ve Velin 2014).

Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda *H. pylori*'nin konakta oluşturduğu immun yanıtın *H. felis* ve *H. heilmanni* ile benzer olduğu belirtilmiştir (Cinque ve ark. 2006). Konakta oluşan immun yanıtı rağmen *H. pylori*'nin, VacA ve lipopolisakaritler yardımıyla immun yanıtı kaçılabildiği belirtilmiştir (Kao ve ark. 2010).

1.8.1. Gastrik Helikobakterler ile İlişkilendirilen Hastalıklar

İnsanlar, herhangi bir semptomatik belirti göstermeksizin *H. pylori*'yi erken çocukluk dönemlerinden itibaren yaşamlarının son yıllarına kadar taşıyabilirler (Amieva ve El-Omar 2008). *H. pylori* infeksiyonları insanlarda asemptomatik kolonizasyon, mide kanseri ve MALT lenfomaya kadar çeşitli hastalıklara sebep olabilir (Tünger 2008). *H. heilmannii* ve *H. felis* de insanlarda benzer hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Priestnall ve ark. 2004, Trebesius ve ark. 2001). Norris ve ark. (1999), 15 sahipli sağlıklı kediden alınan mide biyopsi örnekleriyle PCR yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada 15 kedinin sadece 1'inde hafif gastrit belirtisi saptandığını ancak 15 sağlıklı kediden alınan mide biyopsi örneklerinden 7 örnekte *H. heilmannii*'nin pozitif olduğunu belirtmiş ve sağlıklı kedilerin herhangi bir klinik belirti göstermeden *H. heilmannii* ile kolonize olabileceğini vurgulamışlardır. Ülgen ve ark. (2016), yaptıkları bir çalışmada spiral bakterilerin kolonize olduğu 40 köpekten (22 semptomatik, 18 asemptomatik) alınan mide biyopsi örneklerinin histolojik yöntemler ve PCR ile değerlendirilmesi sonucu 38 köpekte gastrit belirtisi gözlenirken, 34 köpekte *H. heilmannii* Tip II tespit edildiğini, *Helicobacter* türlerinin

kolonize olduğu köpeklerde klinik belirtilerle *Helicobacter* türleri arasında bir ilişkinin olmadığının saptandığını belirtmişlerdir.

1.8.1.1. Akut İnfeksiyon

Helicobacter pylori'nin insanlarda akut infeksiyonun genellikle asemptomatik olduğu bildirilmiş ancak yapılan bazı çalışmalarda *H. pylori*'nin akut infeksiyonunda gastrik mukozal doku yapısında değişikliğe yol açabildiği ve lokal, sistemik humoral immün yanıtı neden olduğu vurgulanmıştır (Sobala ve ark. 1991).

1.8.1.2. Dispepsi

Fonksiyonel dispepsi mide ve abdomenin üst bölgesinde meydana gelen ağrı olarak tanımlanmaktadır. Ülser dispepsinin nedenlerinden biri olarak tanımlanmakla beraber dispepsili hastaların çoğunda gastrik hasar meydana gelmediği belirtilmiştir. *H. pylori* infeksiyonlarının nadiren dispepsiye yol açtığı bildirilmiştir (Tasterman ve Morris 2014). *H. pylori* dışındaki diğer Gastrik Helikobakterlerden *H. felis* ve *H. heilmannii*'nin de dispepsi sendromlarına yol açtığı belirtilmiştir (Yakoob ve ark. 2012).

1.8.1.3. Kronik Gastrit

Gastrik Helikobakterlerle kolonizasyon devamlı olduğunda gastrit rahatsızlığıyla asit sekresyonu arasında bir korelasyon görülür. Bu korelasyon bakterilerin midenin asit sekresyonunu redükte etmesi ve mide enflamasyonu ile ilişkilidir. *H. pylori* genelde korpus bölgesine kıyasla asit sekresyonunun kısmen az olduğu midenin antrum bölgesine yerleşir. Antral gastritis deudenal ülserin gelişmesine neden olabilirken, korpusta fazla asit sekresyonu sonucu metaplazi ve adenokarsinoma gelişebilir (Kusrters ve ark. 2006) ancak malignan formun başlıca *H. pylori* tarafından meydana geldiği ve diğer Gastrik Helikobakter türlerinin malignan formlara yol açmasının çok nadir görüldüğü belirtilmiştir (Vukojevic ve ark. 2011).

1.8.1.4. Peptik Ülser

Gastrik veya doudenal ülser genellikle peptik ülser türüne dahil edilir (Kusters ve ark 2006). Hem gastrik hemde doudenal ülserin *H. pylori* ile yakın bir ilişkisi olduğu belirtilmiş ve doudenal ülser gözlenen hastaların %95'inde, gastrik ülser gözlenen hastaların ise %85'inde *H. pylori* infeksiyonunun varlığı belirlenmiştir (Kuipers ve ark. 1995). *H. pylori*'ye benzer şekilde diğer Gastrik Helikobakter türlerinin de peptik ülserle ilişkili olduğu birçok makalede belirtilmiştir (Goji ve ark. 2015).

1.8.1.5. Gastrik Adenokarsinoma

Gastrik adenokarsinoma diffüz ve intestinal tip olmak üzere iki tipe ayrılır. *H. pylori*'nin gastrik adenokarsinoma ve MALT lenfomaya sebep olduğu kabul edilmektedir. Midede gastritis ile başlayan çeşitli patolojik değişimler gastrik atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve sonuçta intestinal tip kansere yol açabilir. Bu sürecin birçok yıl alabileceği belirtilmekle beraber bireyin yaş, sigara kullanımı ve genetik yatkınlığıyla da alakalı olduğu belirtilmiştir (Kuipers 1999). Gastrik kanserin oluşmasına yol açan histolojik kademeler Şekil 1'de gösterilmiştir.

normal mukoza → *kronik aktif gastrit* → *atrofi*
→ *intestinal metaplazi* → *displazi* → *gastrik kanser*

Şekil 4. Gastrik kanserin oluşmasına yol açan histolojik kademeler (Kupiers 1999).

Maymunlarda yapılan çalışmalarda *H. heilmannii*'nin düşük dereceli gastrite yol açtığı ve zamanla MALT lenfomaya sebep olduğu belirtilmiş (Nakamura ve ark. 2014), *H. felis* ile farelerde yapılan deneysel çalışmalarda *H. felis*'in de gastrik kanseri indüklediği çeşitli bilimsel makalelerde gösterilmiştir (Hughton ve ark. 2004).

1.8.1.6. Mide Özofagus Reflü Hastalığı

Helicobacter pylori ile enfekte bireylerde mide özofagus reflü hastalığı arasında bir korrelasyonun olmadığı gösterilmiş, ayrıca Mide Özofagus Reflü Hastalığı'nın (Gastroesophageal Reflux Disease, GERD) *H. pylori* ile enfekte bireylerde enfekte olmayan bireylere nazaran daha az görüldüğü belirtilmiştir (Perez-Perez ve ark. 2004).

1.8.1.7. Kolorektal Kanser

Helicobacter pylori ile enfekte bireylerde kolorektal kanserin gelişimi araştırılmış ancak net olarak bir ilişki ortaya konulamadığı bildirilmiştir. Buna rağmen *H. pylori*'nin kolorektal kanser gelişmesinde etkisi olduğunu bildiren makaleler de mevcuttur (Burnet-Hartman ve ark. 2008).

1.8.1.8. Sindirim Sistemi Dışındaki Hastalıklar

Helicobacter pylori sindirim sistemi dışındaki çeşitli hastalıklarla da ilişkilendirilmektedir. *H. pylori*'nin ilişkilendirildiği hastalıklar arasında; koroner kalp hastalığı, bazı dermatolojik hastalıklar (rosa, idiyopatik ürtiker hastalığı gibi), otoimmün tiroid hastalığı, trombositopenik purpura, demir eksikliği anemisi ve migren sayılabilir (Kusters ve ark. 2006).

1.9. Gastrik Helikobakterlerin Tanısında Kullanılan Yöntemler

Gastrik Helikobakterlerin identifikasyonunda kullanılan yöntemler invazif ve non invazif olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır ancak her bir yöntemin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır (Logan ve Walker 2001). Gastrik Helikobakterlerin tanısında kullanılan moleküler ve ELISA gibi teknikler ise hem invazif hemde noninvazif teknikler adı altında sınıflandırılabilir. Bu testler yalnızca *H. pylori*'nin değil *H. pylori* dışındaki diğer Gastrik Helikobakterlerin de tanımlanmasında kullanılmaktadır (Bento-Miranda ve Figueiredo 2014). Mide

biyopsi örneklerinden yapılan çalışmaların endoskopi girişimi gerektirmesi nedeniyle invazif işlem gerektirmeyen yöntemlere olan ihtiyacın gittikçe arttığı bildirilmektedir (Gispert ve Pjares 2004).

1.9.1. Histolojik Yöntemler

Gastrik Helikobakter infeksiyonuyla ilgili histolojik muayeneler mukozada meydana gelen çeşitli inflamasyonlarla ilgili önemli bilgiler verir. Birçok bilimsel çalışmada, midenin hem korpus hem de antrum bölgesinden örnek alınması önerilmektedir (Logan ve Walker 2001). Biyopsi örneklerinden Gastrik Helikobakterlerin araştırılması için hematoksilen eozin boyama genellikle kâfi gelmekle beraber, olumlu sonuç alınmadığında, Wartin-Starry, Giemsa, Toluidine Blue, Mc Mullen gibi özel boyalar kullanılabilir. Histolojik kesitlerde Gastrik Helikobakterler, mukus tabakasında ki epiteliyal yüzeyde ve gastrik glandlarda kavisli ya da spiral basiller şeklinde gözlenebilir. Histopatolojik yöntem bazı patolojistler tarafından *H. pylori*' nin tanısında altın standart olarak kabul edilse de boyama yöntemi, gastrik biyopsi örneklerinin hacmi, patolojistin deneyimi göz önüne alınarak birçok makalede elverişli olarak kabul edilmemektedir (Chey ve Wong 2007).

1.9.2. Kültür

Gastrik Helikobakter türlerinin araştırılmasında en spesifik yöntem olarak kültür kabul edilmektedir. Sensivitesi çeşitli çalışmalarda farklılık arz etmekle beraber sensitivitenin optimal koşullar altında %90'dan yüksek olduğu bildirilmiştir. Kültür yönteminin uzun zaman alması, bu bakterilerin bazı suşlarının invitro koşullarda üretilmemesi gibi koşullar göz önüne alındığında kullanışlı olmadığı da bildirilmiştir. Kültür yönteminin en büyük avantajı duyarlılık testine olanak vermesi nedeniyle tedavide kullanılacak antibiyotiğin belirlenebilmesine imkân tanmasıdır. Özellikle antibiyotik tedavisinin başarısız olması durumunda hangi tedavi rejiminin seçileceği konusunda bilgi vermesi, aşı çalışmaları ve virulans faktörlerinin

araştırılması açısından kültür yönteminin son derece önemli olduğu bildirilmiştir (Glupczynski 1998).

Hatalı sonuç olasılığını minimuma indirmek için biyopsi örneklerinden yapılacak kültür çalışmasının midenin hem antrum hemde korpus bölgesinden örnek alınması tavsiye edilmektedir. Kültür yöntemi için önemli rol oynayan bir diğer faktör örneklerin laboratuvara getirilirken taşınacağı solusyondur. Gliserol içeren ortamlar, supplement ilave edilmiş Brain Heart Infusion (BHI), %20 gliserol içeren Brucella broth veya %20 gliserol içeren cysteine-albimi broth taşıma solusyonu olarak kullanılabilir. Son zamanlarda yapılan bilimsel çalışmalarda fizyolojik tuzlu suyunun da taşıma için gayet kullanışlı olduğu rapor edilmiştir (Soltezs ve ark. 1992). Yapılan bilimsel çalışmalarda Gastrik Helikobakterlerin mide biyopsi örnekleri dışında, salya ve dental plaklardan da kültüre edilebildiği rapor bildirilmiştir (Perkins ve ark. 1996).

Alınan örnekler defibrine eskitilmiş at kanı içeren çikolata agar, brucella agar veya colombia agar besiyerlerine ekilebilir. Ekim yapılan ortam orta derecede nemli ve %5-10 CO₂ içermeli ve ortam sıcaklığı 37 °C olmalıdır (Sturegard ve ark. 1998). Ortamda Helikobakter dışındaki floranın üremesini engellemek için vankomisin, trimetoprim, amfoterisin B, nalidiksik asit gibi Gastrik Helikobakterlerin dirençli olduğu antibiyotikler farklı oran ve kombinasyonlarda katılarak kullanılmaktadır (Somily ve Morshed 2015).

1.9.3. Hızlı Üreaz Testi

Helicobacter pylori'nin üreaz aktivitesi uzun zamandan beri bilinmektedir. Gastrik üreazın ilk başlarda memeli midesini asitli ortamdan korumak amacıyla mide tarafından salgılandığına inanılıyordu. Bilinen ilk üre nefes testi 1951 yılında ¹³C-üre kullanılarak kurbağa midesinin üreaz aktivitesini ölçmek amacıyla kullanılmıştır. Üreaz enziminin *H. pylori* tarafından midenin asidik ortamından korunmak amacıyla üretildiği bugün birçok bilimsel makale tarafından kabul edilmektedir (Uotani ve Graham 2002).

Hızlı üreaz testi, *H. pylori* infeksiyonlarını araştırmak amacıyla en yaygın kullanılan mide biyopsi temelli yöntemlerden biridir. Basit, kullanışlı, hızlı ve ucuz olması kullanım sıklığını arttırmakla beraber kanamalı ülser hastalarında sensitivitenin azaldığı bildirilmiştir (www.allinahealth.org). Hızlı üreaz testinin reaksiyon hızı ortam sıcaklığına bağlı olup 38 °C’de ya da 21 °C’de oda sıcaklığında uygulanması gerektiği belirtilmiştir. Doğru sonuçlar, gastrik hastalıklar, olası atropik değişimler ve bakteri yoğunluğu gibi olasılıklara da bağlı olup test yanlış negatif sonuç verebilmektedir. Üreaz aktivitesi olan diğer bakterilerin varlığı yanlış pozitif sonuçlara yolaçabilmektedir. Hızlı üreaz testinin iyi bir tarama testi olduğu belirtilmiş ancak Gastrik helikobakterlerin araştırılmasında gerçek altın standartın sadece kültürel yöntem olduğu belirtilmiştir (Uotani ve Graham 2002).

1.9.4. Serolojik Testler

Gastrik Helikobakterlere karşı oluşan antikorları belirleyen serolojik testler, kolay ve ucuz olmaları nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir. *H. pylori* infeksiyonu lokal mukozal ve sistemik immün yanıtı sebep olur (Logan ve Walker 2001). *H. pylori* infeksiyonuna karşı IgG antikorlarının artışı ELISA yöntemiyle tetkik edilebilir. Asya ve Avrupa’da infeksiyon oluşturan suşların farklılıkları nedeniyle lokal antijenlerden hazırlanmış kitlerin tercih edilmesi önerilmektedir. Serolojik testlerin duyarlılığı %88-95, özgülüğü %86-95’tir. Özgül IgM antikorları infeksiyonun 18. gününden itibaren yükselir ve kısa sürede kaybolurlar, IgG ve IgA antikorları ise 60. günden sonra genellikle birlikte yükselmeye başlar ve infeksiyon tedavi edilmedikçe yüksek kalırlar. IgG pozitif hastaların tümünde IgA yanıtının oluşmadığı, vakaların %5’inde ise IgG yanıtı olmadan sadece IgA yanıtının olabileceği gösterilmiştir (www.düzen.com.tr). Tedaviyi izleyen IgG ve IgA düzeyleri düşer. IgG düzeyi hiçbir zaman tamamen negatifleşmez. Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, tedavi öncesi ve tedavi bitiminden itibaren üç-altı ay sonra iki dönemde titrasyonun karşılaştırılması gereklidir (Yılmaz 2004).

Salya, idrar ve parmaktan alınan kanda *H. pylori* antikorlarını saptayan testler de mevcut olup bu testlerin duyarlılık ve özgülüklerinin düşük olduğu bildirilmiştir.

Salyada *H. pylori* antikorlarını saptayan testlerin sensitivite ve spesifitesinin ELISA'dan daha düşük olduğu ve yaklaşık %45 olduğu bildirilmiş ancak özellikle çocuk yaştaki hastalarda damar yolunun açılmasından kaçınılması gereken durumlarda uygulanabilir oldukları bildirilmiştir (Vaira ve ark. 2000).

1.9.5. Üre Solunum Testi

Helicobacter pylori'nin üreyi hidroliz etme özelliğine dayanan test olan üre solunum testi (urea breath test, UBT), işaretlenmiş karbon atomu kullanılarak yapılır. Bu amaçla yarılanma ömrü uzun ^{14}C radyoizotopu veya stabil ^{13}C nonradioaktif izotop kullanılır. Test ^{13}C veya ^{14}C işaretli ürenin *H. pylori* tarafından üretilen üreaz enzimi ile parçalanması sonucu açığa çıkan CO_2 'nin ekspiryum havasında saptanması esasına dayanır (Sönmez 2002). Üre solunum testi hem *H. pylori* infeksiyonlarının araştırılmasında hemde tedavi sonrası eradikasyon çalışmalarında kullanılabilen basit noninvazif bir testtir. Duyarlılık ve özgüllüğünün %90'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (Gisbert ve Pajers 2004).

Karbon 13 ile işaretli üre kullanımı radyoaktif olmadığı için kadın ve çocuklarda güvenli bir şekilde kullanıldığından popularitesinin giderek arttığı belirtilmiş (Savarino ve ark. 1999) ancak kütle spektrofotometre gerektirdiği için pahalı ve test öncesi hastaya yüksek miktarda (^{14}C UBT' de kullanılandan 30.000 kat daha fazla) soğuk üre içeren test yemeğinin verilmesi ^{13}C UBT'nin dezavantajı olduğu vurgulanmıştır. Bazı makalelerde ^{14}C ile işaretli ürenin radyoaktif olduğu, çocuk ve hamilelikte kullanılmaması gerektiği belirtilmişse de (Balcılar 2009) ^{14}C ile işaretli ürenin radyoaktivitesinin günlük doğal yoldan alınan radyoaktif madde dozundan çok daha az olduğu ancak UBT'nin üreaz üreten diğer bakteriler ekarte edilemediğinde yanlış pozitif sonuçlar verebileceği belirtilmiştir (Selçukcan 2008).

1.9.6. Gaitada Antijen Testi

Gaita antijen testi (*H. pylori* Stool Antigen Test, HpSA), aktif infeksiyonun belirlenmesinde kullanılan noninvazif bir testtir (Chisolm ve ark. 2004). Gaita antijen

testleri antijen-antikor ilişkisi esasına dayalıdır. Test için kullanılacak gaita numuneleri oda sıcaklığında 24 saat ya da +4°C’de dondurulmadan 72 saat muhafaza edilebilir. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası eradikasyon başarısının takibi amacıyla da kullanılabilmesi belirtilmiştir (Garza-González ve ark. 2014).

Helicobacter pylori için gaitadan antijen tespiti ELISA ve immüno-kromatografik (ICA) yöntem ile yapılmaktadır. ELISA temelli HpSA testi birincil tanıda kullanıldığı gibi eradikasyon sonrası terapi çalışmasında da kullanılır. ICA temelli testler özel ekipman gerektirmedikleri için genellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanılır. Gaita örneklerinin kıvamı, sulu olması, sıcaklık ve örneklerin alınmasından sonra geçen zamanın test sonuçlarını etkilediği gibi testlerin sensitivite ve spesifitesinin her bir bölge ve hasta için de değişkenlik gösterebileceği belirtilmiştir (Shimoyama 2013).

Büyükbaba-Boral ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada *H. pylori* şüpheli 50 hastanın 18 (%36)’inde HpSA ELISA ile antijen belirlemiş, bu hastalarının tümünün Simple *H. pylori* immünokart test ile de pozitif sonuç verdiğini belirtilirken, HpSA ELISA ile negatif sonuç veren 32 hastanın 23’ü Simple *H. pylori* immünokart test ile pozitif sonuç verdiğini bu nedenle bu testin duyarlılığının yüksek ancak özgüllüğünün düşük olduğunu bildirmişlerdir.

1.9.7. Moleküler Yöntemler

Moleküler temelli tanı yöntemleri son zamanlarda mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılmakta ve önemleri giderek artmaktadır. Enfeksiyon hastalıklarının tanısı ile epidemiyolojik araştırmalarda ve tedavi sonrası antibiyotik etkinliğinin belirlenmesinde sıklıkla başvurulan yöntemlerdir. Moleküler yöntemlerden günümüzde en yaygın kullanılan PCR olduğu bilinmektedir (Yang ve Rothman 2004).

PCR yöntemi özellikle kültürü zor ya da kültür gerektirmeyen bakterilerin araştırılmasında mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan geleneksel yöntemlerden

daha hızlı ve daha hassas sonuçlar vermektedir (Rahman ve ark. 2013). PCR, polimeraz enzimi ve DNA sentezi için diğer uygun maddelerin ortamda bulunması durumunda DNA'nın karşı sıralarını sentezleyebilme özelliğinden faydalanılarak oluşturulan bir reaksiyondur. PCR reaksiyonu, araştırılacak örnekteki DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denaturasyon), sentetik nükleotitlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon), zincirin uzaması (amplifikasyon) ve bu siklusların tekrarından oluşur (Innis ve ark. 1990). PCR yönteminin hızlı aynı zamanda oldukça spesifik oluşu en önemli avantajlarından. PCR yöntemi mikroorganizmaların saptanmasında en hassas teknik olarak göz önüne alınmaktadır (Glupczynski 1998). Mide biyopsi örnekleri dışında salya, diş plağı, gaita vs. gibi örneklerden de Gastrik Helikobakterlerin araştırılmasına olanak vermektedir. PCR'nin diğer noninvaziv testlerle kıyaslandığında sensitivite ve spesifitesinin %95'in üzerinde olduğu bildirilmiş, tedavi sonrası bakteri miktarının çok düşük olması durumunda bile diğer testlere göre tanıda büyük bir avantaja sahip olduğu bildirilmiştir (Lage ve ark. 1995). PCR temelli yapılan moleküler çalışmalarda *Helicobacter spp.* identifikasyonunda genellikle *16S rRNA gen* temelli yöntemler kullanılmaktadır (Ghill ve ark. 2009). Gastrik Helikobakterlerin tür tayininde ise çoğunluklar üreaz aktivitesinde sorumlu *üreaz B* geni temelli yöntemler kullanılmaktadır (Neiger ve ark. 1998).

1.10. Tedavi, Korunma ve Kontrol

Gastrik Helikobakter infeksiyonu genellikle organizmaların %80 oranında uzaklaştırılmasıyla sonuçlanmaktadır. Tedavinin başarılı olması hem fiziki koşullara hem de hastanın tedaviye uymasına bağlıdır. Evrensel olarak uygulanan ve en başarılı tedavinin üçlü antibiyotik kombinasyonunun kullanımı olduğu ancak tedavi süresinin 10 ya da 14 gün süreli olması üzerine tartışmanın halen sürdüğü belirtilmiştir (Bytzer ve O'Morain 2005). *H. pylori* tedavisi için kullanılan terapötik içeriğin amacı bakterinin kolonize olduğu midede bakteriyi eradike etmektir. *H. pylori* infeksiyonunun eradikasyonu, tedavi sonrası dört hafta ya da daha uzun sürede bakteri için yapılan testin negatif sonuç vermesi olarak tanımlanmıştır (Harris 2001).

Helicobacter pylori infeksiyonunun tedavisinde birçok yöntem kullanılmakla beraber optimal tedavi henüz tam olarak tanımlanamamış ancak tek tür antibiyotik içeren tedavinin *H. pylori*'yi eradike edemediği bildirilmiştir. *H. pylori* infeksiyonunu tedavisinde genellikle klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, tetrasiklin ve florokinolonlar kombine edilerek kullanılır. Kullanılan antibiyotik kombinasyonları genellikle bizmut tuzu, proton pompa inhibitörü (PPI) gibi bir antisekretuar ajanla beraber kullanılır (Garza-González ve ark. 2014). *H. pylori* infeksiyonunda kullanılan farklı PPI'lerin birbirlerine üstünlüklerinin olmadığı belirtilmiş ancak günde iki kez PPI kullanımının tek kullanıma göre daha efektif olduğu ve hastaların %5'inin yan etkiler dolayısıyla tedaviye devam etmedikleri bildirilmiştir (Kasapoğlu ve Türkay 2008). Farklı antibiyotik kombinasyonlarına rağmen hastaların önemli bir bölümünde eradikasyon çalışmalarının başarısızlıkla sonuçlandığı bildirilmiş ve bunun sebebinin farklı nedenlerden kaynaklandığı belirtilmiştir (Me'Graud ve Lamoultte 2003).

Helicobacter pylori'nin tedavi için kullanılan antibiyotiklere karşı direnç göstermesinin başlıca nedenlerinin, düşük mide pH'sı, dirençli mutantların seçilimi, erken reinfeksiyon, bakteri miktarının yüksek olması, konağın mukozal immunitesinin zayıflaması ve *H. pylori*'nin dormant formda bulunabilmesi olarak belirtilmiştir (Me'Graud ve Lamoultte 2003). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre *H. pylori*'nin antibiyotik direnç profilinde bir artış olduğu belirtilmiştir. *H. pylori*'nin tedavisinde kullanılan antibakteriyel ajanlara karşı (nitroimidazol, metronidazol, tinidazol vs.) bakterinin hızlı bir direnç gösterdiği belirtilmiştir. Hong Kong'da yapılan bilimsel çalışmalarda *H. pylori*'nin ön tedavisinde kullanılan metronidazole karşı direncin %50 oranında olduğu, klaritromisine karşı ise bu direncin %10 ve üzerinde olduğu bildirilmiştir (Misiewicz ve ark. 1997). Fransa'da klaritromisine karşı *H. pylori* direncinin %10-15 oranında olduğu, metronidazol direncinin ise %30'lara kadar ulaştığı bildirilmiştir (Varannes 2008). Kullanılan en etkili tedavi rejimlerine rağmen hastaların %90'ında başarı sağlandığı ancak %10'unda yapılan testlerde *H. pylori*'nin pozitif olduğu belirtilmiştir. Tedavinin başarısız olması durumunda farklı stratejiler geliştirilmiş, bu stratejilerin ya kullanılan antibiyotiklerin daha uzun süre kullanılması ya da daha önceden kullanılan antibiyotiklerin

kullanılmasından kaçınılan tedavi rejimlerinin uygulanması olarak belirtilmiştir (Huang ve Hunt 1999). *H. pylori*'nin antibiyotik direncinin dünya çapında artış gösterdiği ve coğrafik lokasyonlara göre değişkenlik gösterdiği, genel olarak bu direnç oranının gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere nazaran daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Binh ve ark. 2013).

Helicobacter heilmannii'nin tedavisiyle ilgili yapılan çalışmalarda, infeksiyonla alakalı patolojik ve klinik belirti gösteren hastalar seçilmiş, *H. pylori*'nin tedavisinde kullanılan üçlü antibiyotik rejiminin *H. heilmannii* infeksiyonu tedavisi için de uygulanmasının başarılı olduğu belirtilmiştir (Bento-Miranda ve Figueiredo 2014). *H. pylori* ve *H. felis* ile deneysel olarak infekte edilmiş farelerde yapılan çalışmalarda tedavi amacıyla probiyotikler denenmiş ve probiyotiklerin Helikobakterlerden kaynaklanan gastrik inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir (Lesbros-Pantoflickova ve ark. 2007). Probiyotiklerin (*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*) antimikrobiyal dirençle mücadelede yarar sağlayabileceği belirtilmiş ancak yapılan bilimsel çalışmalarda *H. pylori* infeksiyonu tedavisinde kullanılmasının nihai bir çözüm olmadığı belirtilmiştir (Abadi 2016).

Son yıllarda *H. pylori* infeksiyonundan korunma amacıyla aşı çalışmaları hız kazanmış olup bu çalışmalarda deney için farklı hayvan modelleri kullanılmıştır. Farklı hayvan modelleri kullanılarak yapılan kolonizasyonu redükte etmek amaçlı immunizasyon stratejileri denenmiş ve bu denemelerin küçük bir kısmının ise koruma amaçlı olduğu bildirilmiştir. Bu aşular farklı antijenler ve bir destekleyici maddeden kompoze edilmişlerdir. İnsanlarda denenilen immunizasyon amaçlı aşuların olumlu bir sonuç vermediği bildirilmiştir (Anderl ve Markus 2014). Çeşitli hayvan modellerinde denenilen kolonizasyonu sınırlama amaçlı aşı çalışmalarının olumlu sonuç verdiği ancak insanlarda istenilen düzeyde bir başarı sağlamadığı bildirilmiştir (Agarwal 2008). *H. pylori* infeksiyonunda başvurulan tedavi rejimleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. *H. pylori* infeksiyonunda uygulanan tedavi stratejileri (Urgesi ve ark 2012).

Tedavi stratejisi	Uygulanışı
1. Basamak Tedavi	
Standart üçlü tedavi	PPI, klaritromisin ve amoksisilin (7–14 gün)
Eşzamanlı tedavi	PPI, klaritromisin, amoksisilin ve metronidazol (7–10 gün)
Hibrid tedavi	7 gün PPI ve amoksisilin, 7 gün PPI, amoksisilin, klaritromisin ve metronidazol.
Bizmut içeren dördü tedavi	PPI, bizmut, tetrasiklin ve metronidazol (10-14 gün).
2. Basamak Tedavi	
Levofloksasin temelli üçlü tedavi	PPI, levofloksasin ve amoksisilin (10 gün) ya da PPI, bizmut, tetrasiklin ve metronidazol (10–14 gün).
Ardışık tedavi	5 gün PPI ile ikili tedavi ve amoksisilin ve 5 gün PPI, klaritromisin, metronidazol içeren üçlü tedavi.
3. Basamak Tedavi	
Kültüre dayalı tedavi	PPI, bizmut ve iki antibiyotik (10 gün) ve antimikrobiyal duyarlılık testleriyle seçilen iki antibiyotik.
Levofloksasin temelli dördü tedavi	PPI, bizmut, levofloksasin ve amoksisilin 10 gün

PPI: protein pompa inhibitörü

Aşı ve antibiyotik kullanımının *H. pylori* infeksiyonlarının tedavi ve eradikasyonunda yeterli olmadığı *H. pylori* infeksiyonuyla mücadelede hijyenik koşullar, sosyo ekonomik düzey ve yaşam koşullarının da büyük bir rol oynadığı belirtilmiştir (Kusters ve ark. 2006).

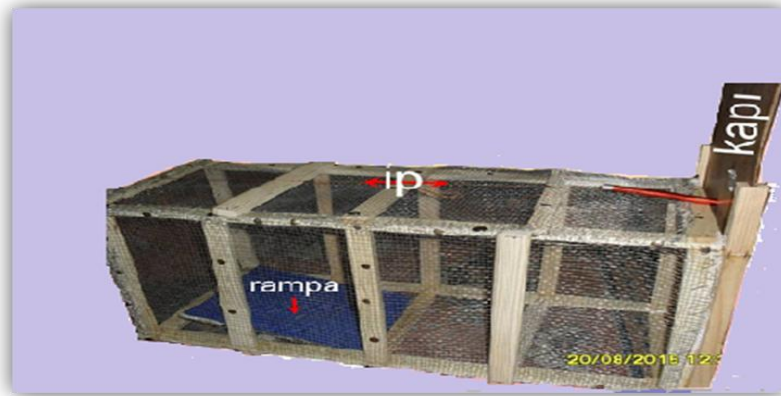
2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak Kars Yöresi'nde yaşayan 100 sokak kedisinden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneği kullanıldı.

2.1.1. Sokak Kedilerinin Yakalanmasında Kullanılan Materyaller

Kedi kaparı: Sokak kedilerini yakalayarak örnek alabilmek amacıyla tarafımızca dizayn edilen tuzak kafes aşağıda ifade edilen şekilde yapıldı. Öncelikle 27 cm x 30 cm x 70 cm boyutlarında kesilen tahta çıtalardan 27 cm × 30 cm × 70 cm ebatlarında dikdörtgen prizma oluşturuldu. Oluşturulan dikdörtgen prizmanın 27cm × 30cm olan bir yüzeyi kapı için açık bırakılarak bu yüzeyin 30 cm olan her iki çıtaya kanal açıldı ve aşağı-yukarı kaydıraklı bir pozisyonda açılacak şekilde bir kapı oluşturuldu. Kapı dışında kalan yüzeyler kümes teliyle sarılarak çıtalara monte edildi. 29 cm × 26 cm boyutunda dikdörtgen şeklinde tahta malzemeden oluşturulan kapının 26 cm'lik boyutun ortasından, 29 cm'lik boyutun 28. cm'sinde bir delik açıldı. Kafesin içine yerleştirilen mukavva malzemeden basamak konularak bu basamak orta yüzeyden iple bağlandı. Basamağa bağlı ip bir kaleme bağlanarak kalem kapıya açılan deliğe geçirildi. Daha sonra basamak üzerine et konarak, kedilerin bu eti yeme sırasında mekanizmanın çalışması suretiyle kediler yakalandı. Kedileri yakalamak için yapılan kapan Resim 1'de gösterilmiştir.



Resim 1. Kedi kaparı ve kısımları.

Mavi renkli yağlı sprej boya: Örnek alınan kedilerin tekrar örnekleme dahil olmasının önlenmesi amacıyla sırt üzerleri mavi renkli yağlı sprej boya ile boyanarak işaretlenmesinde kullanıldı.

File: Kafeste tuzaklanan kedilerin ele geçirilmesi ve zaptı raptı amacıyla kullanıldı.

2.1.2. Örneklerin Alınmasında Kullanılan Materyaller

Yakalanan ve zaptı rapt altına alınan kedilerden salya ve dental plak örneklerinin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasında steril sıvıp ve içerisinde 1 ml steril fizyolojik tuzlu su (%0,9 g/L NaCl) bulunan steril vida kapaklı cam tüp kullanıldı.

2.1.3. Örneklerden Helikobakter İzolasyon ve identifikasyonu Amacıyla Kullanılan Materyaller

Rutin Kullanılan Alet ve Ekipmanlar: Kedilerden alınan salya ve dental plak örneklerinden Helikobakter izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan tüm alet ve ekipmandan yararlanılmıştır.

Besiyerleri

Blood Agar Base No: 2 (Oxoid, CM0271)

	<u>gram/litre</u>
• Proteoz pepton	15
• Maya ekstraktı	5
• Sodyum klorid	5
• Karaciğer digesti	2,5
• Agar	12

Örneklerden *Helicobacter* izolasyonu amacıyla temel besiyeri olarak kullanılmıştır.

Çikolata Agar

Hazırlanışı: 40 gr besiyeri (Blood Agar Base No:2) 1000 ml distile su içerisinde çözündürülerek homojenize edildi. Hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edildikten sonra 70°C'ye kadar soğumasının ardından %5 eskitilmiş defibrine at kanı katıldı. Hazırlanan besi yerinden her bir petri kabına yaklaşık 12,5 ml döküldü (Xu ve ark. 2010). Hazırlanan besiyeri katılaştıktan sonra kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edildi.

Kanlı Agar

Hazırlanışı: 40 gr besiyeri (Blood Agar Base No:2) 1000 ml distile su içersine katılarak çözdürüldü ve homojenize edildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dk. süreyle sterilize edildikten sonra 45- 50°C'ye kadar soğuması beklendi ve %5 steril defibrine koyun kanı ilave edildi. Hazırlanan besiyerine selektiviteyi sağlamak için 2,5 µg/mL amfoterisin B, 20µg/mL trimetoprim ve 6µg/ml vankomisin ilave edildi. Herbir petri kutusuna yaklaşık 12.5 ml olacak şekilde petri kutularına paylaştırıldı. Besiyerleri katılaştıktan sonra kullanılmak üzere +4 °C'de saklandı.

Besiyerine Katılan Antibiyotikler ve Kimyasal Formülleri

- Amfoterisin B (Sigma A 2942): C₄₇H₇₃NO₁₇
- Trimetoprim (Sigma 738-70-5): C₁₄H₁₈N₄O₃
- Vankomisin (Sigma 75423): C₆₆H₇₅CL₂N₉O₂₄

Besiyerlerinde Helikobakterler dışında oluşabilecek üremeleri sınırlandırmak amacıyla bilinen oranlarda karıştırılarak kullanılmıştır.

%20 Gliserinli Brucella Broth (Oxoid, CM 0169)

	<u>gram/litre</u>
• Enzimatik kazein hidrolizatı	10.0
• Peptik hayvan dokusu özütü	10.0
• Maya ekstraktı	2.0
• Dekstroz	1.0
• Sodyum klorid	5.0
• Sodyum bisülfid	0.1
• pH	7.0 +/- 0.2

Hazırlanışı: Besiyerinden 14.05 g tartıldı ve 400 ml distile su içerisinde çözdürüldükten sonra 100 ml gliserin (Sigma-Aldrich, 15524) eklendi. Otoklavda 121°C'de 1 atm basınçta 15 dk sterilize edildi. Kullanılncaya kadar + 4 °C'de muhafaza edildi. İzole edilen suşların saklanması yararlandı.

Biyokimyasal Testlerde Kullanılan Materyaller

Urea broth (Merck 1.08483)

	<u>gram/litre</u>
• Maya ekstraktı	0.1
• KH ₂ PO ₄	9.1
• Na ₂ HPO ₄	9.5
• Urea	20.0
• Fenol kırmızısı	0.01

Hazırlanışı: Dehidre besiyeri 38 gr/L olacak şekilde hafifçe ısıtılarak distile su içerisinde eritildi. Membran filtre ile sterilize edilerek steril tüplere 3'er mL gelecek şekilde dağıtıldı. Besiyeri, izole edilen suşların üreaz aktivitesinin test edilmesinde kullanıldı.

Oksidaz ayıracağı: Oksidaz testinde ticari test solüsyonu (CB6615 ChemBio) kullanıldı.

Hidrojen peroksit (H₂O₂): Katalaz testinde %3'lük Hidrojen peroksit (Sigma, H1009) solüsyonu kullanıldı.

PCR'de Kullanılan Araç-Gereç ve Cihazlar

- Vorteksmikser
- Pikofüj
- Santrifüj (Eppendorf 5417R)
- Dijital ısı blok (VWR)
- Hassas terazi (Ohaus)
- Otomatik pipet (1-10 µl) Gilson
- Otomatik pipet (2-20 µl) Gilson
- Otomatik pipet (10-100 µl) Gilson
- Otomatik pipet (20-200 µl) Gilson
- Otomatik pipet (100-1000 µl)
- Güvenlik kabini (Nuve LN 120)
- MJ mini personal termal cykler (Biorad)
- UV Transilluminatör

Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Reaktifleri

- *Taq* DNA Polymerase Seti (Sigma D1806)
- *Taq* DNA polymerase enzyme (Sigma 5 units/µl)
- 10×PCR Buffer: 100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂ ve %0.01jelatin
- dNTP Mix: 10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10 mM dGTP, 10 mM TTP (Sigma, D7295)
- RNase/RNase free water (Sigma, W1754)

- Mineral yağ (Sigma, M8662)

Kullanılan Primerler

PCR’da kullanılan cins spesifik ve tür spesifik primerler Biomers, (Germany)’ten temin edildi. Primerler üretici firmanın tarifi doğrultusunda DNase ve RNase’den arındırılmış suyla seyreltilerek 100 pm/µl konsantre haliyle kullanılmaya kadar -20°C’de muhafaza edildi. Amplifikasyon aşamasında 20 pm/µl olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı. PCR’da kullanılan primerler ve primerlerin dizilimi Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4. Cins ve tür spesifik PCR’da kullanılan primerler ve dizilimleri.

Cins spesifik primerler		Bant büyüklüğü (bp)	Hedeflenen gen bölgesi
Helikobakter F	5’- GCT ACG ATC C-3’	400	16S rRNA
Helikobakter R	5’-GAT TTT ACC CCT ACA-3		
Tür spesifik primerler			
<i>H. pylori</i> F	5’-GGA ATT CCA GAT CTA AAA AGA TTA GCA GAA AAG-3’	1, 707	Üreaz B geni
<i>H. pylori</i> R	5’-GGA ATT CGT CGA CCT AGA AAA TGC TAA GTT G-3’		
<i>H. felis</i> F	5-ATG AAA CTA ACG CCT AAA GAA CTA G-3’	1, 150	
<i>H. felis</i> R	5’-GGA GAG ATA AAG TGA ATA TGC GT-3’		
<i>H. heilmannii</i> F	5’-GGG CGA TAA AGT GCG CTT G-3’	580	
<i>H. heilmannii</i> R	5’CGT GTC AAT GAG AGC AGG-3’		

Standart Suşlar

Çalışmada, standart suşlar (*H. pylori*, *H. felis*, *H. heilmannii*) olarak, daha önceki çalışmalarda izole ve identifiye edilmiş ve Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi suş koleksiyonundan temin edilen tanımlanmış Helikobakter türleri kullanıldı. Bu bakteri türleri PCR’da pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol olarak PCR su (free DNase, free RNase) kullanıldı.

Elektroforez Aşamasında Kullanılan Kimyasallar

5×Tris-Borik Asit EDTA (TBE)

- Tris bazı 54 g/L
- Borik asit 27.5 g/L
- EDTA 20 ml/L (0.5 M, pH 8.0)

Yukarda belirtilen oranlarda tartılan kimyasallar 980 ml distile su içerisinde çözdürülerek üzerine 0.5M EDTA solusyonu ilave edilerek 1 litreye tamamlandı. Solusyonun pH’sı 8.3’e ayarlanarak elektroforez aşamasında 1/5 oranında distile su ile seyreltilerek kullanıldı.

Agaroz (Prona, Biomax)

PCR ampliconlarının elektroforez işlemine tabi tutulması amacıyla agaroz jel (%1.5 agaroz) kullanıldı.

100 bp Plus DNA Ladder (Bioline, 0.5 µg/µl, 50 µg)

Elektroforez işleminden sonra oluşan bantların büyüklüğünü karşılaştırmak amacıyla 1µl DNA ladder kullanıldı.

6x Loading Dye Solüsyonu (Fermentas 6x DNA Loading Dye, 1ml)

Her bir ampikon için 1 µl Loading Dye solüsyonu eklendi.

SafeView Nucleic Acid Stain (NBS-SV1, NBS Biologicals, 1ml)

Agaroz katılmış 60 ml 1×TBE solusyonuna 1.2 µl, elektroforez tankında ki 400 ml 1×TBE solusyonuna ise 16 µl Safe view nucleic acid stain boyası eklendi.

2.2. Metot

2.2.1. Sokak Kedilerini Yakalama Yöntemi

Kapan, basamağına et konularak sokak kedilerinin görüldüğü yerlere tuzaklandı. Kediler kapanla yakalanınca kapanın kapı bölümüne file geçirilerek kedilerin fileye alımı gerçekleştirildi. Kediler fileye girince filenin ağzı burularak kedilerin zaptı rapt altına alınmasını takiben örnekler alındı. Aynı kediden tekrar örnek almayı önlemek amacıyla yakalanan kediler mavi renkli yağlı sprej boya ile işaretlendi. Kedilerin yakalanması, fileye aktarımı ve zaptı rapt altına alınışı Resim 2, 3, ve 4'te gösterilmiştir.



Resim 2. Sokak kedilerinin kapanla yakalanması.



Resim 3. Yakalanan kedilerin fileye aktarımı.



Resim 4. Kedilerin zaptı rapt altına alınması.

2.2.2. Örneklerin Alınması

Yakalanan kedilerin ağızı açılarak steril sıvap yardımıyla dişlerden sürüntü yoluyla alınan diş plağı ve iç yanak bölgesinden alınan salya örnekleri daha önceden otoklavda sterilize edilmiş ve içerisinde 0.9 gr/L NaCl₂ içeren vida kapaklı cam tüplerere aktarıldı (Ghil ve ark. 2009). Örnekler kısa süre içerisinde Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına

getirilerek değerlendirildi. Sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örnekleri sayısı, kedilerin cinsiyeti, örnekleme tarihi ve yeri Tablo 5'te gösterilmiştir.



Tablo 5. Yakalanan kedilerin cinsiyeti, örneklem tarihi ve yakalandığı yer.

Örnek no. ve türü	Örneğin alım zamanı	Cinsiyet	Yer
1. S ve D	05.08.2015	Dişi	Merkez Mah.
2. S ve D	11.08.2015	Erkek	Merkez Mah.
3. S ve D	11.08.2015	Dişi	Merkez Mah.
4. S ve D	12.08.2015	Erkek	Merkez Mah.
5. S ve D	15.08.2015	Dişi	Merkez Mah.
6. S ve D	18.08.2015	Erkek	Merkez Mah.
7. S ve D	18.08.2015	Dişi	Merkez Mah.
8. S ve D	18.08.2015	Dişi	Merkez Mah.
9. S ve D	19.08.2015	Erkek	İstasyon Mah.
10. S ve D	24.08.2015	Erkek	İstasyon Mah.
11. S ve D	24.08.2015	Dişi	İstasyon Mah.
12. S ve D	24.08.2015	Erkek	İstasyon Mah.
13. S ve D	24.08.2015	Erkek	İstasyon Mah.
14. S ve D	25.08.2015	Erkek	İstasyon Mah.
15. S ve D	25.08.2015	Dişi	İstasyon Mah.
16. S ve D	25.08.2015	Dişi	İstasyon Mah.
17. S ve D	25.08.2015	Dişi	İstasyon Mah.
18. S ve D	27.08.2015	Dişi	Bülbül Mah.
19. S ve D	27.08.2015	Erkek	Bülbül Mah.
20. S ve D	27.08.2015	Erkek	Bülbül Mah.
21. S ve D	27.08.2015	Dişi	Bülbül Mah.
22. S ve D	29.08.2015	Dişi	Bülbül Mah.
23. S ve D	29.08.2015	Erkek	Bülbül Mah.
24. S ve D	29.08.2015	Erkek	Bülbül Mah.
25. S ve D	29.08.2015	Dişi	Bülbül Mah.
26. S ve D	29.08.2015	Dişi	Bülbül Mah.
27. S ve D	30.08.2015	Dişi	Kale İçi Mah.
28. S ve D	30.08.2015	Erkek	Kale İçi Mah.
29. S ve D	30.08.2015	Dişi	Kale İçi Mah.
30. S ve D	30.08.2015	Dişi	Kale İçi Mah.
31. S ve D	30.08.2015	Dişi	Kale İçi Mah.
32. S ve D	01.09.2015	Erkek	Kale İçi Mah.
33. S ve D	01.09.2015	Erkek	Kale İçi Mah.
34. S ve D	01.09.2015	Dişi	Kale İçi Mah.
35. S ve D	01.09.2015	Erkek	Yusufpaşa Mah.

Tablo 5'in devamı.

Örnek no. ve türü	Örneğin alım zamanı	Cinsiyet	Yer
36. S ve D	01. 09. 2015	Erkek	Yusufopaşa Mah.
37. S ve D	01.09.2015	Dişi	Yusufopaşa Mah.
38. S ve D	01.09.2015	Dişi	Yusufopaşa Mah.
39. S ve D	01.09.2015	Dişi	Yusufopaşa Mah.
40.S ve D	02.09.2015	Dişi	Yeni Mah.
41. S ve D	02.09.2015	Erkek	Yeni Mah.
42. S ve D	02.09.2015	Erkek	Yeni Mah.
43. S ve D	02.09.2015	Dişi	Yeni Mah.
44. S ve D	04.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
45. S ve D	04.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
46. S ve D	04.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
47. S ve D	05.09.2015	Erkek	Paşaçayır Mah.
48. S ve D	05.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
49. S ve D	05.09.2015	Erkek	Paşaçayır Mah.
50. S ve D	05.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
51. S ve D	05.09.2015	Dişi	Paşaçayır Mah.
52. S ve D	08.09.2015	Dişi	Ortakapı Mah.
53. S ve D	09.09.2015	Erkek	Ortakapı Mah.
54. S ve D	09.09.2015	Dişi	Ortakapı Mah.
55. S ve D	10.09.2015	Dişi	Ortakapı Mah.
56. S ve D	10.09.2015	Erkek	Ortakapı Mah.
57. S ve D	10.09.2015	Dişi	Ortakapı Mah.
58. S ve D	10.09.2015	Dişi	Ortakapı Mah.
59. S ve D	11.09.2015	Dişi	Şehitler Mah.
60. S ve D	11.09.2015	Dişi	Şehitler Mah.
61. S ve D	11.09.2015	Dişi	Şehitler Mah.
62. S ve D	11.09.2015	Dişi	Şehitler Mah.
63. S ve D	11.09.2015	Dişi	Şehitler Mah.
64. S ve D	12.09.2015	Erkek	Halitpaşa Mah.
65. S ve D	12.09.2015	Erkek	Halitpaşa Mah.
66. S ve D	12.09.2015	Dişi	Halitpaşa Mah.
67. S ve D	12.09.2015	Dişi	Halitpaşa Mah.
68. S ve D	12.09.2015	Dişi	Halitpaşa Mah.
69. S ve D	13.09.2015	Dişi	Yenişehir Mah.
70. S ve D	13.09.2015	Dişi	Yenişehir Mah.

Tablo 5'in devamı.

Örnek no. ve türü	Örneğin alım zamanı	Cinsiyet	Yer
71. S ve D	13.09.2015	Dişi	Yenişehir Mah.
72. S ve D	13.09.2015	Erkek	Yenişehir Mah.
73. S ve D	13.09.2015	Dişi	Yenişehir Mah.
74. S ve D	16.09.2015	Erkek	Sukapı Mah.
75. S ve D	16.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
76. S ve D	16.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
77. S ve D	17.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
78. S ve D	17.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
79. S ve D	17.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
80. S ve D	17.09.2015	Dişi	Sukapı Mah.
81. S ve D	20.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
82. S ve D	20.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
83. S ve D	20.09.2015	Erkek	Atatürk Mah.
84. S ve D	20.09.2015	Erkek	Atatürk Mah.
85. S ve D	20.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
86. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
87. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
88. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
89. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
90. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
91. S ve D	21.09.2015	Dişi	Atatürk Mah.
92. S ve D	21.09.2015	Dişi	Cumhuriyet Mah.
93. S ve D	21.09.2015	Dişi	Cumhuriyet Mah.
94. S ve D	21.09.2015	Dişi	Cumhuriyet Mah.
95. S ve D	21.09.2015	Dişi	Cumhuriyet Mah.
96. S ve D	21.09.2015	Dişi	Hafızpaşa Mah.
97. S ve D	21.09.2015	Dişi	Hafızpaşa Mah.
98. S ve D	21.09.2015	Dişi	Hafızpaşa Mah.
99. S ve D	21.09.2015	Dişi	Hafızpaşa Mah.
100. S ve D	21.09.2015	Dişi	Hafızpaşa Mah.

S: Salya örneği **D:** Dental plak örneği.

2.2.3. Örneklerden *Helicobacter* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Steril sıvıpla alınan ve içerisinde steril fizyolojik tuzlu su bulunan vida kapaklı cam tüplerde taşınarak kısa süre içerisinde laboratuvara ulaştırılan 100 salya ve 100 dental plak örneği daha önceden hazırlanan ve içerisinde 2,5 µg/mL amfoterisin B, 20 µg/mL trimetoprim ve 6 µg/mL vankomisin bulunan %5 defibrine eskitilmiş at kanlı çikolata agar besiyerine çizgi ekim yöntemiyle ekildi. Selektif besiyerine ekilen örnekler 2,5 litrelik jarlara (Merck 1.16387) konarak %10 CO₂'li (mikroaerobik kit, Merck 1.16275) ve nemli ortamda 37 °C'de 10 gün süreyle inkübe edildi. Üreme gözlenen, S tipi, şeffaf, beyaz ya da gri koloniler seçilerek olası Helikobakter şüphesi nedeniyle %5 eskitilmiş at kanlı çikolata agar ya da %5 koyun kanlı agar besiyerine pasajlanarak saflaştırıldı. Saflaştırılan izolatların Gram boyama, mikroskopik muayene ve biyokimyasal test sonuçları dikkate alınarak gastrik *Helicobacter* spp. olarak tanımlanan suşlar %20 gliserinli brucella broth sıvı besiyeri içeren ependorf tüplerine aktarılarak tür düzeyinde moleküler tiplendirilmesi gerçekleştirilmek üzere -80 °C'de muhafaza edildi.

2.2.4. Gram Boyama ve Mikroskopik Morfoloji

Saflaştırılan kolonilerden öze yardımıyla alınan örnekler, bir damla steril fizyolojik tuzlu su damlatılan lam üzerine yayılarak homojenizasyon sağlandı. Hazırlanan preparatın havada kurutululmasını takiben alevden geçirilmek suretiyle fiksasyonu sağlandı. Daha sonra boyama sehpasına alınan preparat sırasıyla kristal viyole ile 2 dk boyanmasının ardından distile su ile yıkanıp, lugol solusyonu dökülerek 1 dakika beklendi ve %95 lik etil alkol ile dekolorizasyon işleminin ardından son olarak sulu fuksin ile 30 saniye boyanıp distile sudan geçirilip kurulandıktan sonra preparatın üzerine immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta incelendi (Becerra ve ark. 2016). Hazırlanan preparatların Gram boyaması sonucu mikroskopta Gram negatif, kıvrımlı basil görünümünde olan izolatların bazı önemli biyokimyasal ayırıcı testlerle tanımlanmasına gidildi.

2.2.5. Biyokimyasal Testler

2.2.5.1. Oksidaz Testi

Steril eküvyon çubuğu Kovacs ayıracına daldırılarak fazlası şişenin kenarından süzdürüldü. Ardından eküvyon çubuğu ile %5 defibrine koyun kanlı agarda saflaştırılan şüpheli koloniye dokundurularak yaklaşık 10 sn süreyle renk değişimi izlendi. Rengin mavi-mor rengine dönüşmesi pozitif olarak kabul edildi (T.C. Sağlık Bakanlığı 2015).

2.2.5.2. Katalaz Testi

Şüpheli kolonilerden alınan örnekler lam üzerine aktararak üzerine bir damla %3'lük H₂O₂ damlatıldı ve hava kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlemlendi. Hava kabarcıklarının oluşması pozitif reaksiyon olarak kabul edildi (Arda 2015).

2.2.5.3. Üreaz Testi

Steril öze kullanılarak saflaştırılan kolonilerden alınan örnekler numuneler burgu kapaklı cam tüplerde hazırlanan üre brotha inoküle edildi ve 24 saat mikroaerobik ortamda inkübasyon sağlandı. Tüplerde rengin kırmızıya dönüşmesi pozitif olarak kabul edildi (Arda 2015).

2.2.5.4. Moleküler Tanımlama Çalışmaları

2.2.5.4.1. İzolatlardan DNA Ekstraksiyonu

İzolatlardan DNA ekstraksiyonu Qiagen Mini Kit kataloğuna göre yapıldı.

- Buna göre; 1ml steril fizyolojik tuzlu su bulunan ependorf tüplere öze ile alınan bakteri kolonileri inoküle edildi.

- 1 ml'lik sıvı süspansiyonu içeren tüpler 7500 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra süpenatant atılarak tortu üzerine 180 µl buffer ATL eklendi.
- Ardından 20 µl proteinaz K eklendikten sonra örnekler 5-10 sn vorteks ve pikofüj işlemine tabi tutuldu.
- Örnekler 56°C'de 10 dk. ısıtıcı bloğunda (VWR Digital Heat Block) inkübe edildi ve tekrar 5-10 sn. vorteks ve pikofüj işlemine tabi tutuldu.
- Örneklerle 200 µl buffer AL eklendi ve tekrar vorteks pikofüj işlemine tabi tutulduktan sonra 70 °C'de 10 dk. inkübe edildi.
- Gerçekleştirilen işlemlerin ardından örneklerle 200 µl absöüt alkol eklendi ve 5-10 sn. vorteks pikofüj işlemine tabi tutuldu.
- Vorteks ve pikofüj işleminden sonra örnekler spin kolonlara aktararak 8000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutuldu ve ardından süzüntü atılarak filtreler yeni toplama tüplerine aktarıldı.
- Filtrelere 500 µl buffer AW1 eklendi ve 8000 rpm'de 1 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Oluşan süzüntü tekrar atılarak filtreler yeni toplama tüplerine aktarıldı ve 500 µl buffer AW2 eklendi ardından 14000 rpm'de 3 dk. santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Filtreler tekrar toplama tüplerine aktarıldı ve 14000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra filtreler tekrar toplama tüplerine aktarıldı ve üzerine 200 µl buffer AE eklenerek 1 dk. santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Elde edilen DNA ekstraksiyonu amplifikasyon aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

2.2.5.4.2. Dokudan DNA Ekstraksiyonu

Sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örneklerinden DNA ekstraksiyonu Qiagen Mini Kit kataloğuna göre yapıldı.

- Buna göre içersinde diş plağı ya da salya sıvay örnekleri bulunan fizyolojik tuzlu su içeren örneklerden 500 µl ependorf tüplerine aktarıldı ve 5 dk. 7500 rpm’de santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra süpernetant atıldı.
- Meydana gelen tortu üzerine 100 µl PBS (100 µl örnek+100 µl PBS= 200 µl) eklendikten sonra 20 µl Proteinaz K eklendi.
- Örneklere 200 µl buffer AL eklendikten sonra 5-10 sn vorteks ve 3-5 sn pikofüj işlemine tabi tutularak örnekler 56°C’de 10 dk ısıtıcı bloğunda (VWR Digital Heat Block) cihazında inkübe edildi.
- İnkübasyon işleminden sonra örnekler 5-10 sn vorteks ve pikofüj işlemine tabi tutularak örneklere 200 µl absolüt etanol eklendi.
- Örnekler 5-10 sn vorteks ve pikofüj işlemine tabi tutulduktan sonra 200µl buffer AL eklendi ve örnekler spin kolonlara aktarıldı.
- Spin kolonlardaki örnekler 8000 rpm’de 1 dk santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra süzüntü atıldı ve filtreler yeni tüplere aktarıldı.
- 500 µl buffer AW1 den herbir tüpe eklendikten sonra 8000rpm’de 1 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Filtreler tekrar toplama tüplerine alındı ve 500 µl buffer AW2 eklendi ardından 14000 rpm’de 3 dk santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra filtreler toplama tüplerine alındı ve 14000 rpm’de 1 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu.
- Filtreli tüplere 200 µl buffer AE eklendi ve oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildi.
- Örnekler 8000 rpm’de 1 dk santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra filtreler atıldı veoluşan DNA ekstraktı amplifikasyon aşamasına kadar -20 °C’de saklandı.

2.2.5.4.3. PCR ile İdentifikasyon

2.2.5.4.4. Cins Düzeyinde İdentifikasyon

Sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örneklerinden elde edilen DNA ekstraktlarında cins düzeyinde Helikobakter varlığının tespiti amacıyla Ghill ve

ark. (2009) belirttiği üzere 16S rRNA genini hedef alan primerler kullanıldı (Tablo 4).

Reaksiyon için gerekli hacim (1×PCR, 25µl) PCR bileşenleri eşliğinde aşağıdaki gibi oluşturuldu.

	<u>Hacim (µl)</u>
•dNTP	0.5 µl
•Buffer	2.5 µl
•Helikobakter cins primer F	1 µl
•Helikobakter cins primer R	1 µl
•MgCl ₂	2.5 µl
•Taq DNA polimeraz	0.5 µl
•RNase, DNase free water	14.5 µl
•DNA	2.5 µl

PCR siklusu gradient ısı makinası (Bio Rad) kullanılarak uygulandı. Helikobakter cins spesifik primerler kullanılarak uygulanan PCR termal şartlar ve siklus sayıları Tablo 6’da gösterildiği gibi tatbik edilmiştir.

Tablo 6. Helikobakter cins spesifik PCR termal şartlar ve siklus sayıları.

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
94 °C’de	2,5 dakika	1 döngü
94 °C’de	1 dakika	40 döngü
50 °C’de	1 dakika	
72 °C’de	1 dakika	
72 °C’de	15 dakika	1 döngü

2.2.5.4.5. Tür Düzeyinde İdentifikasyon

Gerek kültürel yoklamalar sonucu elde edilen izolatların gerekse salya ve dental plak örneklerinden direk olarak cins düzeyinde tanımlanan örneklerin tür düzeyinde belirlenmesi amacıyla üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak PCR yöntemi uygulandı (Tabo 4). *H. pylori*, *H. felis* ve *H. heilmannii* türlerini identifiye etmek amacıyla her bir tür için PCR yöntemi ayrı ayrı uygulandı.

Helicobacter tür spesifik herbir primer için reaksiyon aşağıdaki gibi uygulandı.

	Hacim (µl)
•dNTP	0.5 µl
•Buffer	2.5 µl
•Helicobacter tür primer F	1 µl
•Helicobacter tür primer R	1 µl
•MgCl ₂	2.5 µl
•Taq DNA polimeraz	0.5 µl
•RNase, DNase free water	14.5 µl
•DNA	2.5 µl

Tür düzeyinde identifikasyon amacıyla uygulanan PCR termal şartlar ve siklus sayıları ise Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Helikobakter tür spesifik PCR termal şartlar ve siklus sayıları.

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
94 °C	3 dk.	1 döngü
57 °C	2 dk.	
72 °C	3 dk.	
94 °C	30 sn.	31 döngü
57 °C	3 sn.	
72 °C	1 dk.	
72 °C	5 dk	1 döngü

2.2.5.4.6. Elektroforez ve Görüntüleme

Cins ve tür spesifik PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla yatay jel elektroforez tekniği uygulandı. PCR ürünleri DNA Safe View nükleik asit boyasıyla boyanan % 1.5 agaroz jel kuyucuklarına konularak TBE buffer solusyonu içeren elektroforez tankı içerisinde 90 volt ve 40 miliamperde 40 dakika yürütüldü. Oluşan bantlar jelde yürütülen 100 baz çifti DNA standartı (100 bp DNA Ladder) ile kıyaslandı ve meydana gelen DNA fragmentleri UV transilluminatörde görüntülendi. Oluşan görüntüler fotoğraflanarak dökümanete edildi. 400 baz çiftine (bp) denk gelen bantlar Helikobakter, 580 baz çiftine denk gelen bantlar *H. heilmannii*, 1,150 baz çiftine denk gelen bantlar *H. felis*, 1,707 baz çiftine denk gelen bantlar *H. pylori* pozitif olarak değerlendirildi.

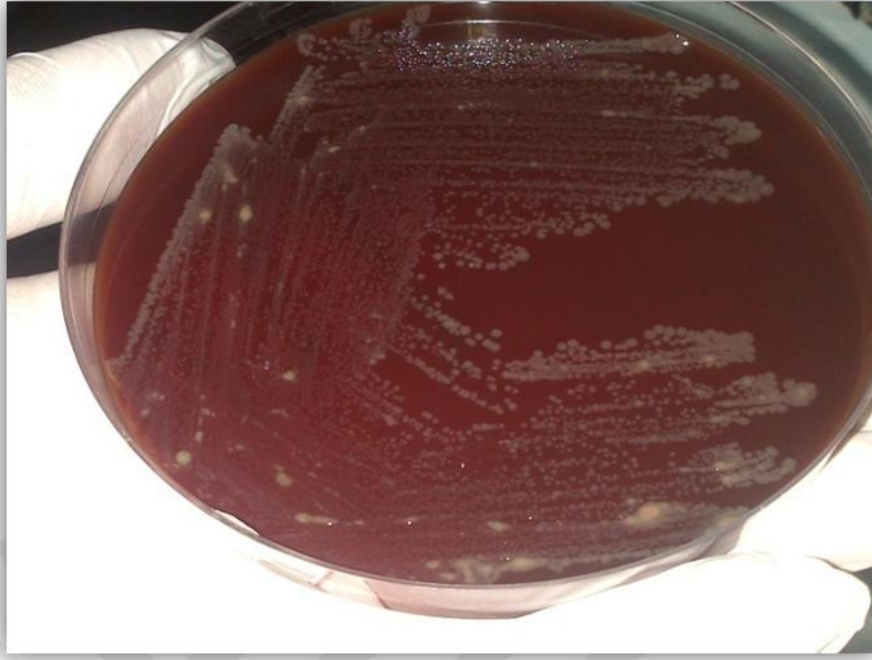
2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Sokak kedilerinden alınan salya ve dental plak örneklerinin Gastrik Helikobakterler açısından kültürel yoklamaları ve PCR ile değerlendirilmesisonucu elde edilen verilerin istatistiksel önemlerinin belirlenmesi Statistical Package Social Science (SPSS) 13 programında, Chi-Square (χ^2) testi ile değerlendirildi.

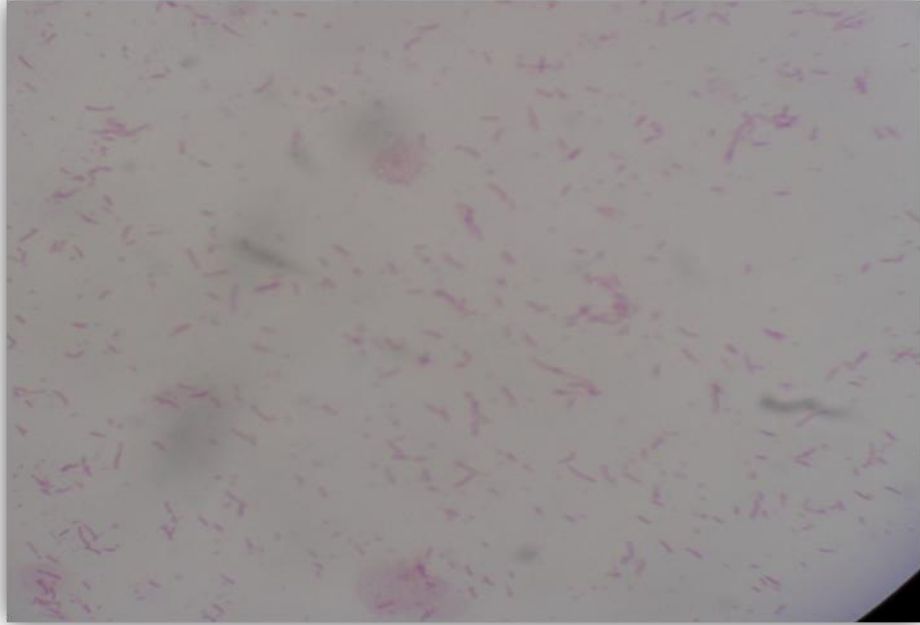
3. BULGULAR

3.1.1. Örneklerden *Helicobacter* spp. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

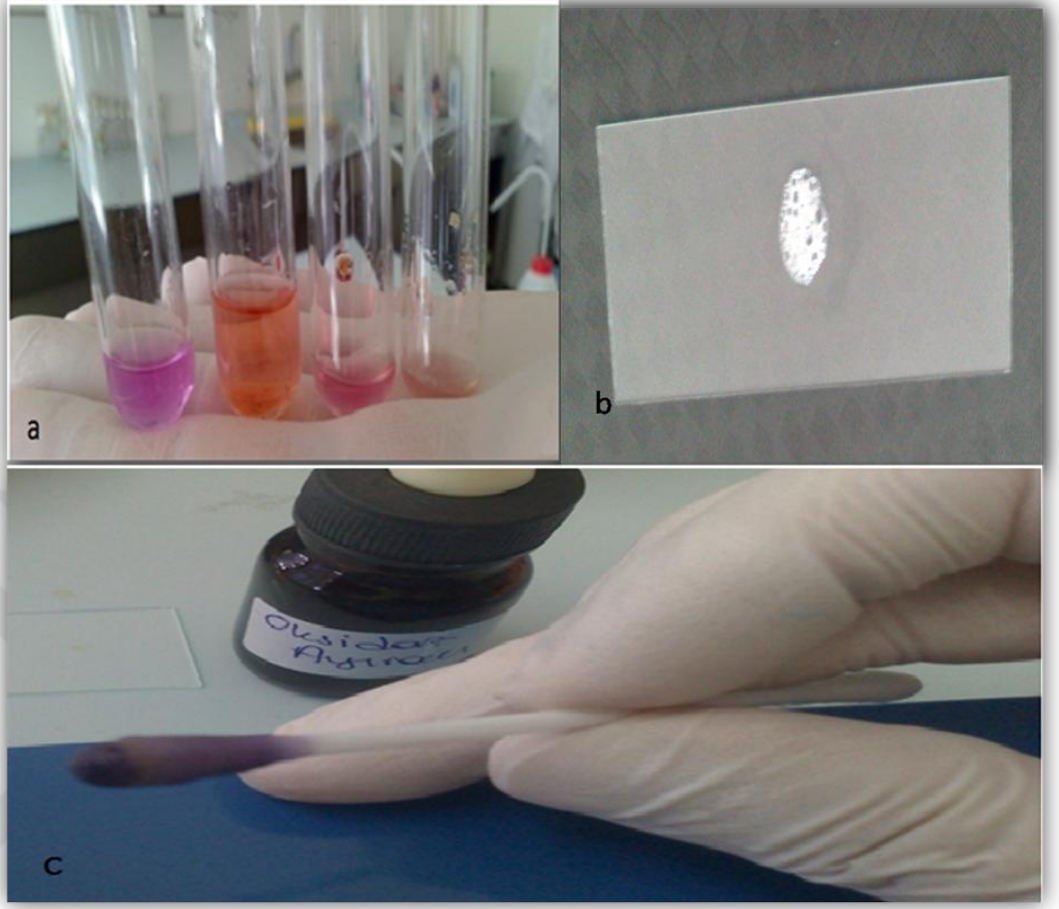
Kars Merkez ilinin çeşitli mahallelerinden yakalanan 100 sokak kedisinden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneklerinin selektif besiyerine ekilerek, %10 CO₂ li ortamda 10 gün süreyle inkubasyonunun ardından üreme gözlenen S tipi, şeffaf, beyaz ya da gri kolonilerin (Resim 5) Gram boyama ile mikroskopik morfolojisinin incelenmesi sonucu Gram negatif, kıvrımlı basil görünümlü olanlar (Resim 6) oksidaz, katalaz ve üreaz aktiviteleri (Resim 7. a, b, c) açısından değerlendirilmesi sonucu salya örneklerinin 10 (%10)'undan ve dental plak örneklerinin 5 (%5)'inden *Helicobacter* spp. izolasyon ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon gerçekleştirilen 10 salya örneğinin 5'inin hem dental plak hem salya örneğinde ortak olduğu görülmüştür. Bu araştırmada helikobakterlerin izolasyon aşamasında selektif agara direkt ekim yönteminden yararlanılmıştır. İnkübasyon sonrası bazı örneklerde yoğun kontaminasyonlar ile karşılaşmış ve saf kültür elde etmek için birkaç kez pasaja ihtiyaç duyulmuştur. Ayrıca elde edilen izolatların örneklem yapıldığı yerlere göre dağılımı dikkate alındığında ilk dört izolatın aynı mahalleden örneklenen kedilerden elde edilmesi dikkat çekicidir. Helikobakter izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirilen örneklerin numaraları ile örnek türü Tablo-8'de verilmiştir.



Resim 5. Örneklerden izole edilen *Helicobacter* spp. izolatının kanlı agardaki koloni morfolojisi.



Resim 6. Örneklerden izole edilen *Helicobacter* spp.'nin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 1000$).



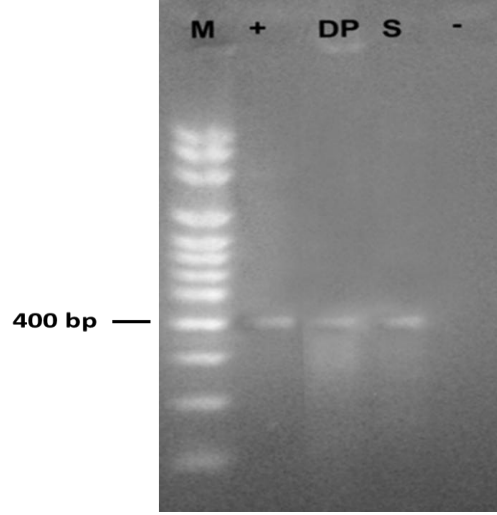
Resim 7. a, b, c. Örneklerden izole edilen *Helicobacter* spp.'nin biyokimyasal test sonuçları. a. Üreaz testi b. Katalaz testi c. Oksidaz testi.

Tablo 8. *Helicobacter* izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirilen örnekler ile türleri.

Örnek türü ve <i>Helicobacter</i> spp. izolasyonu		
Örnek No	Salya	Dental plak
1	Pozitif	Negatif
2	Pozitif	Pozitif
3	Pozitif	Pozitif
4	Pozitif	Pozitif
7	Pozitif	Negatif
17	Pozitif	Pozitif
38	Pozitif	Negatif
43	Pozitif	Negatif
54	Pozitif	Negatif
91	Pozitif	Pozitif

3.1.2. İzolatların PCR ile İdentifikasyon Bulguları

Salya ve dental plak örneklerinden izole ve identifiye edilen toplam 15 (10 salya, 5 dental plak) *Helicobacter* spp. izolatının tür spesifik primerler yardımıyla gerçekleştirilen PCR sonucu tüm suşların 580 bp DNA bantları oluşturduğu, bu nedenle tüm izolatların *H. heilmannii* olduğu ortaya konulmuştur (Resim 9). Örneklerin hiçbiri *H. pylori* veya *H. felis* olarak belirlenmemiştir. İzolatların PCR ile tür düzeyinde tanımlanması sonuçları Tablo 9’da verilmiştir.



Resim 8. Salya ve dental plak örneklerinin Helikobakter cins spesifik PCR sonucu bant görünümü.

M: Marker (Bioline hyperladder 100 bp plus), **-** : Negatif kontrol, **+** : Pozitif kontrol, **DP:** Dental plak, **S:** Salya.

İzolatların PCR ile tür düzeyinde tanımlanması sonuçları Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 9. Salya ve dental plak izolatlarının Helikobakter tür spesifik PCR sonucu.

İzolat tür ve sayısı	Tür spesifik PCR bulguları		
	<i>H. heilmannii</i>	<i>H. felis</i>	<i>H. pylori</i>
Salya 10	15 (%100)	0 (%0.00)	0 (%0.00)
Dental plak 5	5 (%100)	0 (%0.00)	0 (%0.00)
Toplam 15	15 (%100)	0 (%0.00)	0 (%0.00)

3.1.3. Salya ve Dental Plak Örneklerinin Direkt Cins Spesifik PCR Bulguları

Başboş kedilerden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneğinin direk cins spesifik PCR ile değerlendirilmesi sonucu sırasıyla 50 (%50) ve 20 (%20) örnek 400

bp büyüklüğündeki bantlar oluşturarak Helikobakter pozitif olarak belirlendi. Pozitif olarak belirlenen örneklerin 5' inin aynı hayvanlara ait örnekler olduğu belirlenmiştir. Salya ve dental plak örneklerinin cins spesifik PCR ile değerlendirilmesi sonucu pozitif belirlenen örnekler ve türü Tablo 10'da sunulmuştur. Ayrıca örneklerin direkt PCR sonucu oluşturdukları bant profilleri Resim 8'de görülmektedir.

Tablo 10. Salya ve dental plak örneklerinin direk cins spesifik PCR bulguları.

Örnek No	Örnek türü	
	Salya	Dental plak
1	Pozitif	Negatif
2	Pozitif	Pozitif
3	Negatif	Pozitif
4	Pozitif	Pozitif
5	Negatif	Negatif
6	Negatif	Negatif
7	Pozitif	Negatif
8	Negatif	Negatif
9	Pozitif	Negatif
10	Negatif	Pozitif
11	Negatif	Pozitif
12	Negatif	Negatif
13	Negatif	Pozitif
14	Negatif	Negatif
15	Pozitif	Negatif
16	Negatif	Negatif
17	Pozitif	Negatif
18	Negatif	Pozitif
19	Pozitif	Negatif
20	Pozitif	Negatif
21	Pozitif	Pozitif

Tablo 10'un devamı.

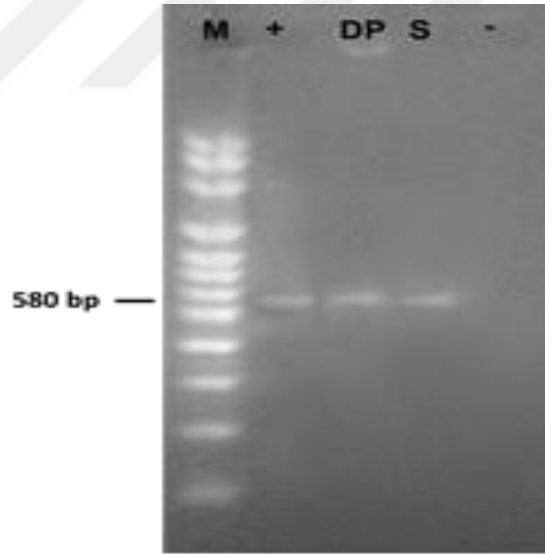
Örnek türü		
Örnek No	Salya	Dental plak
22	Negatif	Pozitif
23	Pozitif	Negatif
24	Negatif	Negatif
25	Pozitif	Negatif
26	Pozitif	Negatif
27	Negatif	Negatif
28	Negatif	Pozitif
29	Pozitif	Negatif
30	Pozitif	Negatif
31	Negatif	Negatif
32	Pozitif	Negatif
33	Pozitif	Negatif
34	Negatif	Negatif
35	Negatif	Pozitif
36	Pozitif	Negatif
37	Negatif	Negatif
38	Pozitif	Pozitif
39	Pozitif	Negatif
40	Pozitif	Negatif
41	Negatif	Negatif
42	Pozitif	Negatif
43	Pozitif	Negatif
44	Pozitif	Negatif
45	Negatif	Pozitif
46	Pozitif	Negatif
47	Negatif	Negatif
48	Negatif	Pozitif
49	Pozitif	Negatif
50	Pozitif	Negatif
51	Negatif	Negatif
52	Pozitif	Negatif
53	Pozitif	Negatif
54	Negatif	Negatif
55	Negatif	Negatif
56	Pozitif	Negatif

Tablo 10'un devamı.

Örnek No	Örnek türü	
	Salya	Dental plak
57	Pozitif	Negatif
58	Negatif	Negatif
59	Negatif	Negatif
60	Pozitif	Negatif
61	Negatif	Negatif
62	Negatif	Pozitif
63	Pozitif	Negatif
64	Pozitif	Negatif
65	Negatif	Negatif
66	Negatif	Negatif
67	Negatif	Pozitif
68	Pozitif	Negatif
69	Negatif	Negatif
70	Pozitif	Negatif
71	Pozitif	Negatif
72	Negatif	Negatif
73	Pozitif	Negatif
74	Negatif	Negatif
75	Negatif	Negatif
76	Negatif	Negatif
77	Negatif	Negatif
78	Pozitif	Negatif
79	Negatif	Pozitif
80	Negatif	Pozitif
81	Negatif	Negatif
82	Negatif	Negatif
83	Negatif	Negatif
84	Pozitif	Negatif
85	Pozitif	Negatif
86	Pozitif	Pozitif
87	Negatif	Negatif
88	Negatif	Negatif
89	Negatif	Pozitif
90	Pozitif	Negatif
91	Pozitif	Pozitif

Tablo 10'un devamı.

Örnek No	Örnek türü	
	Salya	Dental plak
92	Pozitif	Negatif
93	Pozitif	Negatif
94	Pozitif	Negatif
95	Pozitif	Negatif
96	Pozitif	Negatif
97	Negatif	Negatif
98	Pozitif	Negatif
99	Pozitif	Negatif
100	Negatif	Negatif



Resim 9. Örneklerden izole edilen *Helicobacter* spp. lerin tür spesifik primerler ile PCR sonucu ortaya konan *H. heilmannii* bantlarının görünümü. **M:** Marker (Bioline, Hyperladder 100 bp plus) **+:** Pozitif Kontrol, **DP:** Dental plak, **S:** Salya, **- :** Negatif kontrol.

3.1.4. Salya ve Dental Plak Örneklerinin Tür Spesifik PCR Bulguları

Cins spesifik PCR ile pozitif bulunan örneklerin tür spesifik üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak yapılan değerlendirilmesi sonucu 50 salya örneğinin 19 (%38)'u, 20 dental plak örneğinin 10 (%50)'u *H. heilmannii* olarak tespit edilirken pozitif belirlenen 5 örneğin ortak olduğu görülmüştür (hem salya hem de dental plak). Salya örneklerinin 31 (%62) ile dental plak örneklerinin 10 (%50)'u araştırılan üç tür Helikobakter açısından (*H. heilmannii*, *H. felis* ve *H. pylori*) negatif bulunmuştur. Tablo 11'de cins spesifik PCR pozitif bulunan salya ve dental plak örnek tür ve sayıları ile bunların tür düzeyindeki PCR sonuçları görülmektedir. Örnekler bazında yukarıda belirlenen sonuçlar, hayvanlar bazında ele alındığında ise 100 sokak kedisinin 65 (%65)'inin ağız boşluğunda Helikobakter varlığı belirlenirken bunların 29 (% 44.61)'unun *H. heilmannii* olduğu ortaya konmuştur.

Tablo 11. Cins spesifik PCR pozitif bulunan salya ve dental plak örnek türleri ve sayıları ile tür spesifik PCR sonuçları.

Tür spesifik PCR sonucu					
Cins spesifik PCR pozitif örnekler		<i>H. heilmannii</i>	<i>H. felis</i>	<i>H. pylori</i>	Tanımlanamayan
Örnek türü	Örnek sayısı				
Salya	50	19 (%38)	0 (%0)	0 (%0)	31 (%62)
Dental plak	20	10 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	10 (%50)
Toplam	70	29 (%41.42)	0 (%0)	0 (%0)	41 (%58.57)

3.2. İstatiksel Analiz Sonuçları

Sokak kedilerinden elde edilen 100 salya ve 100 dental plak örneklerinden *Helicobacter* spp. izolasyonu ile direkt cins spesifik ve tür spesifik PCR sonuçlarının istatistiksel analizi sonuçları Tablo 12, 13 ve Tablo 14’te sunulmuştur.

Tablo 12. Salya ve dental plak örneklerinden *Helicobacter* spp. izolasyon sonuçlarının istatistiksel analizi.

		Salya örneğinden izolasyon		Total
		Negatif	Pozitif	
Dental plak örneğinden izolasyon	Negatif	90 %100,0	5 %50,0	95 %95,0
	Pozitif	0 %0,0	5 %50,0	5 %5,0
Total		90 %100,0	10 %100,0	100 %100,0

p<0.01

Yüz sokak kedisinden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneğinin kültürel yoklamaları sonucu salya örneklerinin 10’undan, dental plak örneklerinin ise 5’inden *Helicobacter* spp. izolasyonu gerçekleştirilmiş olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.01). Bu durum kedilerin ağız boşluğu örneklerinde Helikobakter varlığının kültürel olarak belirlenmesi çalışmalarında salya örneklerinden izolasyon oranının dental plak örneklerine göre daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 13. Salya ve dental plak örneklerinden *Helicobacter* spp. tespiti amacıyla cins spesifik primerler kullanılarak elde edilen PCR sonuçlarının istatistiksel analizi.

		Salyadan direk cins spesifik PCR		Total
		Negatif	Pozitif	
Dental plaktan direk cins spesifik PCR	Negatif	30	50	80
		% 66,7	% 90,9	% 80,0
	Pozitif	15	5	20
		% 33,3	% 9,1	% 20,0
Total		45	55	100
		% 100,0	% 100,0	% 100,0

p<0.01

Salya ve dental plak örneklerinden Helikobakter cins spesifik primerler kullanılarak direkt uygulanan PCR yöntemiyle 100 salya örneğinin 50'sinde, 100 dental plak örneğinin ise 20' sinde Helikobakter spp. tespit edilmiş ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.01). Salya ve dental plak örneklerinden PCR ile Helikobakter spp. belirleme çalışmalarında salya örneklerinin daha avantajlı olduğu görülmektedir. Örneklem yapılan kediler bazında ele alındığında 100 kedinin 65 (%65)'inin ağız boşluğu örneklerinde Helikobakter varlığı gözlemlendi.

Tablo 14. Salya ve dental plak örneklerinden üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak elde edilen tür spesifik PCR bulguları istatistiksel analizi.

		Dental plak örneklerinden <i>H. heilmannii</i>		Total
		Negatif	Pozitif	
Salya örneklerinden <i>H. heilmannii</i>	Negatif	71	5	76
		% 71,0	% 5,0	% 76,0
	Pozitif	19	5	24
		% 19,0	% 100,0	% 24,0
Total		90	10	100
		% 100,0	% 100,0	% 100,0

p<0.01

Salya ve dental plak örneklerinden Gastrik Helikobakter türlerini (*H. felis*, *H. pylori*, *H. heilmannii*) tanımlamak amacıyla üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR'ın sonucu sırasıyla 19'u, 10'u *H. heilmannii* olarak tespit edilmiş olup, *H. heilmannii* tespit edilen 5 örneğin ortak olduğu görülmüştür. 100 salya ve 100 dental plak örneklerinin hiçbirinden *H. pylori* ya da *H. felis*'in varlığı belirlenemedi. Salya ve dental plak bulguları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$).



4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Spiral yapılı bakterilere yaklaşık 100 yıl önce kedi ve köpeklerin midesinde rastlanmış olmasına rağmen, 1983'te *H. pylori*'nin insan midesinde kronik gastrit, doudenal ülser ve mide kanseriyle ilişkisi anlaşıldıktan sonra Helikobakterlerin çeşitli hayvanların midelerindeki varlığına dair araştırmalar hız kazanmış ve araştırmacıların bu alandaki ilgisini arttırmıştır (Handt ve ark.1994). *H. pylori* dışında *H. heilmannii* ve *H. felis*'in de insanları infekte eden iki Gastrik Helikobakter türü olduğu (Cisholm ve Owen 2003) ve bu bakteri türlerinin öncelikle kedilerin midesinden izole edildiği ve daha sonraları insanlarda da saptandığı rapor edilmiştir (Andersen ve ark. 1999).

Çeşitli canlılarda Gastrik Helikobakterlerin araştırılmasında genel olarak kültür (Cammorata ve ark. 2004), hızlı üreaz testi (Berry ve Sagar 2006), ¹³C-¹⁴C üre nefes testleri (Gomes ve ark.2002), histopatolojik muayene (Lee ve Kim 2015), dışkıda antijen testi (Gülcan ve ark. 2005), PCR ve ELISA (Makristathis ve ark. 1998) gibi serolojik testlerden yararlanılmaktadır (Glupczynski 1998). Mide biyopsi örneklerine dayalı tanı yöntemleri günümüzde Gastrik Helikobakterlerin ortaya konmasında özellikle epidemiyolojik amaçlı olan çalışmalarda sıklıkla kullanılmakta ancak kullanılan her bir yöntemin avantaj ve dezavantajları olduğu bildirilmektedir (Logan ve Walker 2001). Gastrik Helikobakter türlerinin araştırılmasında PCR tekniklerinin yüksek bir sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu, özellikle mide biyopsi örneklerinden PCR ile yapılan araştırmalarda bu tekniklerin sensitivitesinin %100 olduğu belirtilmiş aynı zamanda dışkı ve salya gibi invazif işlem gerektirmeyen materyallerden de Helikobakterlerin PCR ile araştırılabilmesinin bu tekniklerin avantajı olduğu üzerine vurgu yapılmıştır (Dunn ve ark. 1997). Gastrik Helikobakterelerin belirlenmesinde kullanılan histolojik yöntemlerin avantajları arasında spesifite ve sensitivitesinin yüksek olması dezavantajlarının ise pahalı ve deneyimli personel gerektirmesi aynı zamanda enfeksiyonun midenin farklı bölgelerini tutması (bakterilerin midenin farklı bölümlerinde kolonize olabilmesi) gibi faktörler histolojik yöntemlerin dezavantajları olduğu bildirilmiştir (Chey ve Wong 2007). Gastrik Helikobakterlerin izolasyon ve identifikasyonunda kültür

yöntemi altın standart olarak kabul edilmekte bakterilerin antimikrobiyal duyarlılığının testinde, aşı çalışmalarında ve bakterilerin detaylı bir şekilde incelenmesine olanak sağlaması gibi nedenlerle büyük avantajları bulunmaktadır (Dunn ve ark. 1997). Helikobakterlerin araştırılmasında kültürel yöntemin birçok avantajı olmasına rağmen rutinde güç ve zahmetli oluşu, ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda sınırlı katkıda bulunduğu (Glupczynski 1998) ve çoğu bilimsel çalışmada *H. pylori*'nin gastrik mukozadan kültürünün nadir ve zor olduğu üzerinde durulmuştur (Young ve ark. 2001).

Günümüzde insanlar ile birlikte evcil ve yabani hayvanlarda Gastrik Helikobakterlerin varlığının tespitine yönelik birçok araştırma mevcuttur. Jankowski ve ark. (2016) Polonya'da klinik olarak gastrit bulgusu gözlenen 30 köpekten alınan salya örneklerinin PCR ile incelenmesi sonucu 23 örnekte (%70.6) *Helicobacter* cinsine ait DNA ya rastlandığını ve bunların 22 (%70.9)'sinin *H. heilmannii* olduğu belirlenmiştir. Sağnak ve Özgür (2011) İstanbul yöresinde 40'ı sahipli 56'sı sahipsiz 96 köpekten alınan dışkı örneklerini (36'sı gastrit belirtili, 60'ı sağlıklı) *H. pylori* açısından kültür, PCR ve RFLP yöntemleriyle incelemişler, 96 köpek dışkı örneğinin %12.5'inde *H. pylori* DNA sını saptandığını, bu oranın gastrik klinik belirti gösteren örneklerde %13.9 iken klinik belirti göstermeyenlerde ise %11.7 olarak belirlendiğini, ancak dışkı örneklerinin hiçbirinden *H. pylori* kültüre edilemediğini bunun nedeninin etkenin dışkı örneklerinde kokoid formda bulunmasından kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır. Terio ve ark. (2005), Kuzey Namibiya'da 10 yabani, 23'ü hayvanat bahçesinde yaşayan toplam 33 çitadan, alınan mide biyopsi örneklerinden yaptıkları PCR ve histopatolojik araştırmalarda, yabani çitaların hiçbirinde gastrite rastlanmadığını, ancak hayvanat bahçesinde yaşayan çitaların 3'ünde gastrit varlığının tespit edildiğini, PCR ile her iki grubun tümünde de *Helicobacter* DNA'sına rastlandığını ancak çitalarda Helikobakterlerle gastrit arasında bir ilişkinin bulunmadığını ve gastritin strese kaynaklanabileceğini, hayvanat bahçesindeki çitalarda gastrit gelişiminin yabanilere oranla daha yüksek olduğunu ve bu durumun ölüm oranını artırabileceğini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada yapılan 16S rRNA sekans sonucu 8 çitadan alınan örneklerin %98-99 arasında *H. pylori*'ye benzerlik gösterdiği, 25 çitadan alınan örneklerin ise %97-99

arasında *H. heilmannii*'ye benzediğini, ancak bu örneklerin *H. pylori* ve *H. heilmannii* üreaz primerleriyle amplifiye edilemediğini ve *cagA* geninin identifiye edilemediğini dolayısıyla bu türlerin *H. heilmannii* ya da *H. pylori* olamayacağını belirtmişlerdir. Bazı çalışmalarda maymunların midelerinde de Gastrik Helikobakter türlerine rastlanmış olduğu bildirilse de *H. pylori*'nin maymunlarda çok nadir rastlandığını aynı zamanda maymunlarla insanların temaslarının nadir olmasından dolayı bir risk oluşturmadıkları bildirilmiştir (Megraud ve Broutet 2000).

Cantet ve ark. (1999) 60 adet domuzdan (6 çiftlikten, her bir çiftlikten 10 adet) alınan mide biyopsi örneklerinin Gastrik Helikobakter açısından histolojik, kültürel ve 16S rDNA genini hedef alan primerleri kullanarak yaptığı PCR çalışmasında, histolojik muayene sonucu domuzların %58'inde Helikobakter benzeri organizmaların varlığının belirlendiğini, PCR sonucunda %80'inin pozitif bulunduğu ve örneklerin hiçbirinden izolasyon yapılamadığı belirtilirken, 16S rRNA geni amplifiye edilen örnekler PCR-RFLP ile dört gruba ayrılmış, sekanslama sonucu C grubu hariç tüm örnekler *H. heilmannii* Tip 1 olarak identifiye edilirken C grubunun tümünün *H. heilmannii* Tip 2 olduğunu ve hiçbir örnekten *H. pylori* identifiye edilemediğini belirtmişlerdir.

Handt ve ark. (1994) 4 farklı pet hayvanı satıcısından elde ettikleri 29 kediye ait gastrik dokuların kültürel, histolojik ve 16S rRNA tabanlı PCR incelemesi sonucu bir örnekten *H. pylori* izolasyonu gerçekleştirildiğini ve bu izolatın PCR ile teyit edildiğini, ayrıca 15 örneğin histolojik açıdan *H. pylori* ile uyumlu görüldüğünü bildirirken, *H. pylori*'nin kedilerin midesinde insanların midesine benzer şekilde hasar oluşturduğunu ve evcil kedilerde belirlenen bu durumun insanlardaki *H. pylori* hastalıkları için bir model teşkil edebileceğini ve bulaşabilme potansiyelinin olabileceğini rapor etmişlerdir. Ülkemizde çeşitli hayvanlardan (Köpek, kedi, tavuk, fare, rat ve kobay) elde edilen mide, barsak, karaciğer ve safra kesesi örneklerinden Helikobakter türlerinin izolasyonuna ilişkin yürütülen bir tez çalışmasında 75 Köpek mide örneğinin %2.6'sından, 25 kedi mide örneğinin ise %16'sından *H. felis* izole edildiği, ayrıca mikroskopik muayene ve üreaz testiyle köpeklerin %62'sinde, kedilerin ise %28'inde gastrik Helikobakter benzeri organizmaların varlığının

belirlendiği bildirilmiştir (Yıldırım 1997). Erginsoy ve Sözman (2006), Kars Yöresinde başıboş 10 kediyeye ait mide biyopsi örneğinin histopatolojik incelemesi sonucu örneklerin tümünde spiral bakteri varlığının saptandığını, ancak kedilerde spiral bakteri kolonizasyonunun histolojik olarak herhangi bir dokusal farklılığa yol açmadığını belirtmişlerdir. Yine aynı yörede gerçekleştirilen 30 başıboş kediden elde edilen mide biyopsi örneklerinin immunohistokimyasal ve PCR ile değerlendirilmesi sonucu örneklerin %93.3'ünde Gastrik Helikobakter benzeri organizmalar belirlendiğini, bunların mikroskopik olarak %53.3'ünün *H. felis*, %76.7'sinin *H. heilmannii*, %43.3'ünün ise her iki bakteri tipini birlikte bulundurduğunu, bu örneklerin üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR ile teyit edildiğini bildirmişlerdir (Erginsoy ve ark. 2016). Strauss-Ayalia ve ark. (2001), 12 kısırlaştırılmış sağlıklı, 9 kusma, ishal ve kilo kaybı semptomlu ve spesifik bir patojenle infekte olmadığı kanıtlanmış 24 olmak üzere toplam 45 kediden alınan mide biyopsi örneğine PCR, Kinetik-ELISA ve üreaz testi kullanarak yaptıkları çalışmada 5'i klinik belirti gösteren kedilerden olmak üzere 21 kedinin 17'sine ait örneğin üreaz pozitif olduğu bu nedenle hasta yada klinik belirti göstermeyen kediler arasında üreaz testi yönünden bir fark olmadığını bildirmişlerdir. 45 kedinin örneğinin cins spesifik PCR ile değerlendirilmesi sonucu 17 sinin *Helicobacter* spp. ile infekte olduğu, tür spesifik PCR sonucu bunların 9'unun *H. heilmannii* 4'ünün ise *H. felis* olduğu (3 örneğin *H. heilmannii* ve *H. felis* ortak) 7 örneğin ise tiplendirilemediğini belirtirken hiçbir örnekte *H. pylori* tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Spesifik bir patojen içermediği bilinen 24 kedi ile klinik belirti gösteren 9 kediden 4'ünün cins spesifik PCR ve üreaz yönünden negatif olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. Kinetik-ELISA sonucunun ise klinik belirti gösteren kedilere ait örneklerin diğerlerinden alınan örneklere nazaran önemli ölçüde yüksek olduğu ($p<0.0001$) ve bu nedenle Helikobakterlerle doğal olarak infekte olmuş kedilerde IgG serokonversiyonu arasında bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Nieger ve ark. (1998), 58 kedinin mide biyopsi örneklerinden PCR, hızlı üreaz testi ve histopatolojik muayene yöntemlerini kullanarak yaptıkları çalışmada, 2 kedi hariç 56 kedinin gastrik mukozasının normal olduğunu, Wartin-Starry gümüş boyama sonucu ile elde edilen preparatlarda kedilerde Helikobakter kolonizasyonu ile gastrit arasında herhangi bir korrelasyonun olmadığını belirtmişlerdir. PCR bulguları

sonucunda ise *H. pylori* ya da *H. felis* saptanamazken mide biyopsi örneklerinin %78'inde *H. heilmanni*'nin identifiye edildiğini belirmişlerdir. Aynı çalışmada örneklenen kedilere üre nefes testi de uygulanmış %58'inin pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Perkins ve ark. (1996), bir pet satıcısından *H. pylori* ile doğal infekte olduğu belirlenen 12 aylık 8 kedinin 2'si kontrol grubu olarak ayrılmak üzere 6'sına 21 gün süreyle ağız yolu ile üçlü tedavi uygulanarak (amoksisillin, metronidazol ve omeprazol) *H. pylori*'nin eradikasyonu üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu amaçla deney grubuna sokulan 6 kedinin tedavi öncesi ve tedavi sonrası 2-4 ve 6. haftalarda dental plak, gastrik sıvı, salya, antrum, fundus, kardial ve midenin orta bölgesinden alınan biyopsi örneklerini kültür ve PCR ile değerlendirmişlerdir. Tedaviden önce salya örneklerinin üçünden, kardial, antrum ve midenin orta bölgesinden alınan örneklerin tümünden *H. pylori*'nin kültüre edildiğini ancak fundustan alınan örneklerden *H. pylori* kültüre edilemediğini ifade ederlerken, tedavi sonrası 2. ve 4. haftalarda alınan salya, gastrik sıvı, gastrik mukoza örneklerinden *H. pylori* kültüre edilemediğini, ancak gastrik sıvı örneklerinin çoğunda PCR ile pozitiflik belirlendiğini bildirmişlerdir. Tedavi sonrası 6. haftada alınan gastrik doku örneklerinin hiçbirinden kültür yapılamazken yalnızca bir kedinin mide sıvısından *H. pylori* izolasyonu gerçekleştirilebildiğini ifade etmişlerdir. PCR analizi sonucu ise 5 kedinin dental plak, salya ve /veya gastrik sıvı örneklerinde *H. pylori* DNA ürünlerinin amplifiye edildiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda *H. pylori*'nin kullanılan antibiyotiklere karşı zaman içerisinde direnç kazandığını belirtmişlerdir.

Meining ve ark. (2009), *H. heilmanni* ile infekte infekte olduğu tespit edilen 200 hasta ve *H. pylori* ile infekte olduğu tespit edilen 600 hasta ile gerçekleştirdikleri anket sonucu *H. heilmannii* ile infekte hastaların 177'sinin domuz, köpek, kedi, rodent, buzağı gibi hayvanlarla direkt teması olduğu, *H. pylori* ile infekte hastaların ise 485'inin bu tür hayvanlarla teması olduğu bilgisi edinilmiş, bu nedenle domuz, kedi, köpek gibi hayvanların *H. heilmanni* ve *H. pylori* açısından rezervuar olabileceğini belirtmişlerdir. Van Loon ve ark. (2003), *H. heilmannii*'nin çocuklarda %0.3-0.4 oranında bulunduğunu belirtirken, Boyanova ve ark. (2007) yaptıkları bir vaka takdiminde hastaneye abdominal ağrı şikâyetiyle gelen bir çocuktan alınan

mide biyopsi örneğinde PCR yöntemiyle *H. heilmanni* varlığının saptandığını belirtmiş ve insanlara *H. heilmanni*'nin kediler tarafından bulaştırılabileceği üzerinde durmuşlardır. Sykora ve ark. (2003), yaptıkları bir olgu sunumunda ise hematemez, bulantı ve abdominal ağrıyla gastrointestinal endoskopi birimine kabul edilen 14 yaşındaki bir kız çocuğunun midesinin endoskopik muayenesi sonucu özofagus, korpus ve doudenumun normal görüldüğünün ancak fundustan alınan biyopsi örneklerinde kronik gastrit belirlenirken, hastanın *H. pylori* dışkı antijen testi ile üreaz 13C testi ve *H. pylori* için (IgG) serolojik testinin de negatif olduğunu, ancak biyopsi örneklerinin Wartin-Starry gümüş boyası ile boyanıp mikroskopik muayeneleri sonucunda uzun spiral bakterilerin görüldüğünü ve bu bakterilerin kuvvetle muhtemel *H. heilmannii* olabileceğini ve insanlarda kronik aktif gastritin yalnız *H. pylori* ile değil bu gibi diğer Gastrik Helikobakterler tarafından da meydana getirilebileceğini ifade etmişlerdir.

Kars yöresinde yaşayan sokak kedilerinin salya ve dental plak örneklerinde Gastrik Helikobakterin varlığının kültürel yöntemler ve PCR ile belirlenmesinin amaç edinildiği ve ülkemizde ilk kez yürütülen bu çalışma ile 100 başıboş kediden alınan 100 salya ve 100 dental plak örneği değerlendirilmiştir. Kültürel yoklamalar sonucunda salya örneklerinin 10 (%10)'undan ve dental plak örneklerinin 5 (%5)'inden *Helicobacter* spp. izolasyon ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon gerçekleştirilen 10 salya örneğinin 5'inin hem dental plak hem salya örneğinde ortak olduğu görülmüştür. Ayrıca elde edilen izolatların örneklem yapıldığı yerlere göre dağılımı dikkate alındığında ilk dört izolatın aynı mahalleden örneklenen kedilerden olduğunun belirlenmesi dikkat çekicidir. Bu durum Helikobakterlerin bulaşında ortak bir kaynağın varlığı ya da kediler arası bir bulaşın göstergesi olarak da değerlendirilebilir. İzolatların tümü PCR ile *H. heilmannii* olarak tespit edilirken, *H. pylori* ve *H. felis* belirlenmemiştir. Bu bulgu kedilerde, Gastrik Helikobakterlerden daha çok *H. heilmannii* tespit edildiğini bildiren çalışmalarla (Nieger ve ark. 1998, Strauss-Ayalia ve ark. 2001, Erginsoy ve ark. 2016) uyum göstermektedir. Elde ettiğimiz Helikobakter izolasyon oranı Yıldırım (1997)'in elde ettiği izolasyon oranı ile benzerlik göstermekte ancak izole edilen türler açısından farklılık olduğu görülmektedir. Keza çalışmamızda elde edilen tüm

izolatlar *H.heilmannii* olarak tanımlanmıştır. Bu araştırmada helikobakterlerin izolasyon aşamasında selektif agara direkt ekim yönteminden yararlanılmıştır. İnkübasyon sonrası bazı örneklerde yoğun kontaminasyonlar ile karşılaşmış ve saf kültür elde etmek için birkaç kez pasaja ihtiyaç duyulmuştur. Bu durum besiyerine katılan antibiyotik ve antifungallerin, ağız boşluğuna ait örneklerden (salya ve diş plağı gibi) Helikobakter izolasyonu için yeterli bir seçicilik sağlamadığını ortaya koymaktadır. Ağız boşluğunda bulunan mikrobiyal floranın mide florasına göre çok daha zengin ve karmaşık olması buna neden olarak gösterilebilir. Çeşitli canlılarda Gastrik Helikobakterlerin değişik örneklerden kültürel yöntemlerle izolasyonunun oldukça güç, düşük düzeylerde ya da mümkün olmadığı görülmektedir (Handt ve ark. 1994, Perkins ve ark. 1996, Tomb ve ark. 1997, Cantet ve ark. 1999, Sağnak ve Özgür 2011). Bu araştırmada da izolasyon oranının, örneklerin Gastrik Helikobakterler açısından PCR ile değerlendirilmesi sonuçlarına göre düşük olduğu görülmektedir. Ancak salya ve dental plak örneklerinden *H. heilmannii*'nin düşük oranlarda da kültüre edilebilmiş olması, dışkı örneklerinin aksine Gastrik Helikobakterlerin ağız boşluğunda basil formunu koruduklarını düşündürmektedir. Ayrıca *H. heilmannii*'nin sokak kedilerinin ağız boşluğundan kültüre edilebilmiş olması Jalava ve ark. (2001), Boyanova ve ark. (2007), Meining ve ark. (2009), bildirdiği gibi muhtemel zoonotik karakterinin olabileceğini ve oral-oral yolla bulaşabileceğini desteklemektedir. Araştırma sonucu elde edilen veriler Nieger ve Simpson (2000), Dyunhoven ve Jonge (2001), Güner ve Telli (2012) kedi, köpek, domuz gibi canlıların rezervuar ve gıda ile diğer birçok çevresel örneğin Gastrik Helikobakterler açısından infeksiyon kaynağı olabileceği, Ferguson ve ark. (1993), Megraud ve Broutet (2000) özellikle oral boşlukta bulunan etkenlerin (salya ya da dental plak gibi) en muhtemel bulaşma kaynağını oluşturabileceği görüşünü doğrulamaktadır.

Eaton ve ark. (1996), ABD'de köpeklerin mide biyopsi örneklerinden PCR ile yaptıkları çalışmalarda Gastrik Helikobakterlerin prevalansının %67 olduğunu bildirmiş ve bu etkenlerin zoonotik olabileceği üzerinde durmuşlardır. Portekiz'de 69 köpekten alınan mide biyopsi örneklerinden PCR ve histopatolojik yöntemler kullanılarak yapılan bir çalışmada 69 köpekten sadece 1'inin normal gastrik

mukozaya sahip olduğu gözlenmiş ve aynı köpeğin midesinde de spiral bakterilerin varlığı belirtilmiş ve köpeklerin %95.7'sinde gastrit gözlenirken, PCR bulguları sonucu köpeklerin midesinde Helikobakter varlığının %85 olduğu bildirilmiştir (Amorim ve ark. 2015). Ghil ve ark. (2009) Kore'de 64 sahipli ve 101 başıboş kediye ait salya ve dışkı örneklerinden Helikobakter cins spesifik primerleri kullanmak suretiyle PCR ile yaptıkları çalışmada başıboş kedilerin hem dışkı hem de salya örneklerinde Helikobakter varlığının %91.1 olarak bulunduğunu, sahipli kedilerde ise bu oranın %56.3 olarak tespit edildiğini belirtirken, tür spesifik primerlerle örneklerin hiçbirinin *H. pylori* yada *H. felis* olarak belirlenmediğini ancak başıboş kedilerin sahipli kedilere oranla Helikobakterlerle daha fazla kolonize olduğunu belirtmişlerdir. Khosnegah ve ark. (2008), kedilerde Gastrik Helikobakterlerin PCR ile belirlenmesine ait yaptıkları bir çalışmada alınan mide biyopsi örneklerinin değerlendirilmesi sonucu klinik belirti göstermeyen kedilerde bu oranın %41 ile %100 arasında belirlenirken, klinik belirti gösterenlerde ise %57-%100 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yürütülen bu araştırma sonucunda salya ve dental plak örnekleri alınan 100 sokak kedisinin 65 (%65)'inde cins spesifik PCR ile *Helicobacter* spp. tespiti yapılmıştır. Bu prevalans değeri Eaton ve ark. (1996) ile Khosnegah ve ark.'nın (2008), bildirdiği oranlara oldukça yakın iken Amorim ve ark. (2015) ile Ghil ve ark.'nın (2009), bildirdiği değerlerden daha düşüktür. Bu durum Kuipers'in (1999) de, değindiği gibi Gastrik Helikobakterlerin canlılardaki prevalansının bölgesel, genetik ve yaş gibi determinantlarla ilintili olarak değişebileceği görüşünü desteklemektedir. Cins spesifik PCR ile pozitif bulunan örneklerin tür spesifik üreaz B genini hedef alan primerler kullanılarak yapılan PCR değerlendirilmesi sonucu 50 salya örneğinin 19 (%38)'u, 20 dental plak örneğinin 10 (%50)'u *H. heilmannii* olarak tespit edilirken pozitif belirlenen 5 örneğin ortak olduğu görülmüştür (hem salya hem de dental plak). Bu çalışmada kedilerin salya ve dental plak örneklerinde araştırılan Gastrik Helikobakter türlerinden *H. heilmannii* tespit edilmiş olması kedilerde Kuipers (1999) ile Erginsoy ve ark. (2016) bildirdiği şekilde predominant türün *H. heilmannii* olduğunu göstermektedir. Ancak PCR pozitif salya örneklerinin 31 (%62)'i ile dental plak örneklerinin 10 (%50)'u araştırılan üç tür Helikobakter

açısından (*H. heilmannii*, *H. felis* ve *H. pylori*) negatif bulunmuştur. Cins spesifik PCR ile *Helicobacter* spp. pozitif olarak belirlenen ancak tür düzeyinde PCR ile araştırılan türlere özgü olduğu belirlenemeyen bu örneklerin *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* gibi kedilerde varlığı bildirilen diğer Helikobakter türleri veya tanımlanmamış türler olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, sokak kedilerinin salya ve dental plak örneklerinde Gastrik Helikobakter türlerinin belirli oranlarda izole edilmesi ve PCR ile belirlenmesi araştırmalarda noninvazif yolla ve kolay elde edilen örneklerin de tanı amacıyla kullanılabilmesini, bu canlıların çeşitli sekret ve ekskretleriyle etkenlerin insanlara bulaşmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca kedilerden alınan örneklerden Gastrik Helikobakter türlerinden *H. heilmannii*, *H. felis* ve *H. pylori*'nin yanı sıra diğer bulunması olası türlerin araştırılması, tür düzeyinde tanımlanamayanların ortaya konulması açısından önemli olacaktır. Araştırma sonucu elde edilen verilerin Gastrik Helikobakterlerin etiyolojisi, epidemiyolojisi ve tanısına ilişkin bilgilere katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

Abadi ABD: Vaccine against *Helicobacter pylori*: Inevitable approach. WJG, 21; 22(11): 3150-3157, 2016.

Adams BL, Bates TC, Olive JD: Survival of *Helicobacter pylori* in a natural freshwater environment. Appl. Environ Microbiol, 69(12): 7462–7466, 2003.

Agarwal KS: *Helicobacter pylori* vaccine: From past to future. Review article. Mayo Clinic Proc, 83(2):169-175, 2008.

Ahmed N, Loke MF, Kumar N, Vadivelu J: *Helicobacter pylori* in 2013: Multiplying genomes, emerging insights. Review article. John Wiley & Sons Ltd, *Helicobacter*, 18(Suppl. 1): 1–4, 2013.

Algood HMS, Cover TL: *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. Clin. Microbiol Rev, (19):14. 597–613, 2006.

Alm R, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, Smith DR, Noonan B, Guild BC, de Jonge BL, Carmel G, Tummino PJ, Caruso A, Uria-Nickelsen M, Mills DM, Ives C, Gibson R, Merberg D, Mills SD, Jiang Q, Taylor DE, Vovis GF, Trust T J: Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature, 14;397(6715): 176-80, 1999.

Amieva MR, El-Omar EM: Host-Bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol, 134(1): 306-323, 2008.

Amorim I, Smet A, Alves O, Teixeira S, Saraiva A L, Taulescu M, Reis C, Haesebrouck F, Gärtner F: Presence and significance of *Helicobacter spp.* in the gastric mucosa of Portuguese dogs. GUT Pathogens, 7(12): 2-8, 2015.

Anderl F, Gerhard M: *Helicobacter pylori* vaccination: Is there a path to protection? WJG, 20(34): 11939-11949, 2014.

Andersen LP, Boye K, Blom J, Holck S, Norgard A, Elsborg L: Characterization of a Culturable *Gastropirillum hominis* (*Helicobacter heilmannii*) strain isolated from human gastric mucosa. J Clin Microbiol, 37(4): 1069-1076, 1999.

Anđ-Küçüker M, Özmütlu Ö: *Helicobacter pylori* 'nin morfolojik, kültür ve biyokimyasal özellikleri. Klimik Derg, 5(1): 6-10, 1992.

Appelmek BJ, Simons-Smit I, Negrini R, Moran AP., Aspinall GO, Forte J G, De Vries T, Quan H, Verboom T, Maaskant JJ, Ghiara P, Kuipers EJ, Bloemena E, Tadema TM, Townsend RR, Tyagarajan K., Crothers JM, Jr, Monteiro MA, Savio A, Graaf J: Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host lewis blood group antigens in autoimmunity. Infect. Immun, 64(6): 2031–2040, 1996.

Arda M: Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi. Beşinci Baskı. Ankara. 2015.

Balcılar E: *Helicobacter pylori* için tedavi uygulanmış hastalarda gaitada bakılan HP antijeninin güvenilirliği. Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü. İstanbul, 2009.

Becerra S C, Sanchez CJ, Christy RJ, Burmeister DM: An optimized staining technique for the detection of Gram positive and Gram negative bacteria within tissue. BMC Res Notes, 9: 216, 2016.

Beckert S, Clyne M, Tectmeyer N: Molecular mechanisms of gastric epithelial cell adhesion and injection of CagA by *Helicobacter pylori*. Cell Commun Signal, 1:9: 28, 2011.

Belzer C, Stoof J, Beckwith CS, Kuipers EJ, Kusters JG, Arnoud H, Vliet van M: Differential regulation of urease activity in *Helicobacter hepaticus* and *Helicobacter pylori*. Microbiology, 151(Pt 12):3989-3995, 2005.

Bento-Miranda M, Figueiredo C: *Helicobacter heilmannii* sensulato: An overview of the infection in humans. World Journal of Gastroenterology, 20(47): 17779-17787, 2014.

Berry V, Sagar V: Rapid urease test to diagnose *Helicobacter pylori* infection. JK Science, 2(8): 86-88, 2006.

Binh TT, Shiota S, Nguyen LT, Ho DDQ, Hoang HH, Ta L, Trinh DT, Fujioka T, Yamaoka Y: The incidence of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Vietnam. J Clin Gastroenterol, 47(3): 233-238, 2013.

Bodger K, Crabtree JE: *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. British Medical Bulletin. British Concil, 54: (1), 1998.

Boyanova L, Lazarova E, JeleV C, Gergova G, Mitov I: *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* in untreated Bulgarian children over a period of 10 years. J Med Microbiol, 56(Pt 8):1081-1085, 2007.

Brown LM: *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev, 22(2): 283-297, 2000.

Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD: Infectious agents and colorectal cancer: A review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC virus, and human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers, 17(11): 2970-2979, 2008.

Büyükbaba-Boral Ö, Gönüllü N, Anđ-Küçüker M: Dışkı örneklerinde *Helicobacter pylori* antijeninin saptanmasında ELISA ve immünokart testinin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 34: 13-15, 2004.

Bytzer P, O'Morain C: Treatment of *Helicobacter pylori*. Blackwell Publishing Ltd. Helicobacter, 10(1): 40-46, 2005.

Cammarota G, Martino A, Pirozzi G, Cianci R, Branca G, Nista EC, Cazzato A, Cannizzaro O, Miele L, Grieco A, Gasbarrini A, Gasbarrini G: High efficacy of 1-week doxycycline- and amoxicillin-based quadruple regimen in a culture-guided, third-line treatment approach for *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther, 1:19(7): 789-795, 2004.

Can F: *Helicobacter pylori*'nin tanı ve tedavisinin izlenmesinde laboratuvar testleri, yenilikler, değerlendirme, klinisyene katkısı. www.duzen.com.tr/artfiles/helicobacter. pdf. 27. 09. 2016.

Cantet F, Magras C, Marias A, Federighi M, Me'graudi F: *Helicobacter* Species Colonizing Pig Stomach: Molecular Characterization and determination of prevalence. Appl Environ Microbiol, 65(10): 4672-4676, 1999.

Chey WD, Wong BCY: American College of Gastroenterology Guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol, 102: 1808-1825, 2007.

Chisholm SA, Watson CL, Teare EL, Saverymuttu S, Owen RJ: Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits?. *J Med Microbiol*, 53(7): 623-627, 2004.

Chu YT, Wang YH, Wu JJ, Lei HY: Invasion and multiplication of *Helicobacter pylori* in gastric epithelial cells and implications for antibiotic resistance. *Infect Immun*, 78(10): 4157-4165, 2010.

Chisholm SA, Owen RJ: Development and application of a novel screening PCR assay for direct detection of '*Helicobacter heilmannii*'-like organisms in human gastric biopsies in Southeast England. *Diagn Microb Infect Dis*, 46(1): 1-7, 2003.

Cinque SMS, Rocha GA, Correa-Oliveira R, Soares TF, Moura SB, Rocha AMC, Nogueira AMMF, Cabral MMDA, Vieira LQ, Martins-Filho OA, Queiroz DMM: The role of IFN- γ and IL-4 in gastric mucosa inflammation associated with *Helicobacter heilmannii* Type 1 Infection. *Braz J Med Biol Res*, 39(2): 253-261, 2006.

Cellini L, Donelli G: Virulence factors of *Helicobacter pylori*. *Microb Ecol Health Dis*, (2): 259-262, 2000.

Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree J E, Ghiara P, Brodovsky M, Rappuoli R, Covacci A: Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 10:93(25): 14648-14653, 1996.

Coldham T, Rose K, O'rourke J, Neilan BA, Dalton H, Lee A, Mitchell H: Deduction, isolation, and characterization of *Helicobacter Species* from gastrointestinal tract of the Brushtail Possum. *Appl Environ Microbiol*, 77(5): 1581-1587, 2011.

Crabtree JE: Immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* infection. *Scan J Gastroenterol*, 31: 3-10, 1996.

Demiray E, Bekmen N: *Helicobacter pylori* Enfeksiyonu ve fagositoz. *Mikrobiyol Bül*, 42: 177-184, 2008.

Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ: *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*, 10(4): 720-741, 1997.

Eaton KA, Dewhirst FE, Paster BJ, Tzellas N, Coleman BE, Paola J, Sherding R: Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: Animal and Public Health Implications. *JCM*, 34(12): 3165-3170, 1996.

Erginsoy SD, Sözmen M: Gastric *Helicobacter*-like organisms in stray cats. *Acta Vet. BRNO*, 75(1): 91-98, 2006.

Fallone CA, Chiba N, Veldhuyzen van Zanten S, Fischbach L, Gisbert JP, Hunt HH., Jones NL, Render C, Leontiadis GI, Moayyedi P, Marshall JK.: The Toronto Consensus for the Treatment of *Helicobacter pylori* Infection in Adults. *Gastroenterol*, 151: 51-69, 2016.

Falsafi T, Valizadeh N, Najafi M, Ehsani A, Khani A, Landarani Z, Falahi Z: Culture of *Helicobacter pylori* from stool samples in children. *Can J Microbiol*, 53(3): 411-416, 2007.

Fawcett PT, Gibney KM and Vinette KMB: *Helicobacter pylori* can be induced to assume the morphology of *Helicobacter heilmannii*. *JCM*, 37: (4), 1045-1048, 1999.

Ferguson DA, JR, Li C, Patel NR, Matberry WR., Chi DS, Thomas E: Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *JCM*, 31(10): 2802-2804, 1993.

Fritz EL, Slavik T, Delpont W, Oliver B, Merwe SW. Incidence of *Helicobacter felis* and the effect of coinfection the gastric mucoza in the African Population. JCM, 44(5): 1692-1696, 2006.

Foegeding NJ, Caston RR, McClain MS, Ohi MD., Cocer CL: An Overview of *Helicobacter pylori* VacA toxin biology. Review, Toxins, 8: 173, 2016.

Fox JG: The non-*H. pylori* helicobacters: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. Review, GUT, 50: 273–283, 2002.

Fox JG, Dewhirst FE, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ, JR, Gorelick PL and Ward JM: *Helicobacter hepaticus* sp. nov., a Microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. J Clin Microbiol, 32(5):1238-45, 1994.

Fu HW: *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein: From molecular pathogenesis to clinical applications. WJG, 14; 20(18): 5294-5301, 2014.

Garza-González E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ: A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. WJG, 20(6): 1438-1449, 2014.

Gangwer, KA, Shaffer CL, Suerbaum S, Lacy DB, Cover, TL, Bordenstein SR: Molecular evolution of the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin gene vacA. J Bacteriol, 192(23): 6126–6135, 2010.

Ghil HM, Yoo JH, Jung WS, Chung TH, Youn HY, Hwang CY: Survey of Helicobacter infection in domestic and feral cats in Korea. J Vet Sci, 10(1): 67-72, 2009.

Gisbert JO, Pajers JM: Review article: ¹³C Urea breath test in diagnosis of *Helicobacter pylori* infection-a critical review. Aliment Pharmacol Ther, 20: 1001-1017, 2004.

Glupczynski Y: Microbiological and serological diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: an overview. Br Med Bull, 54(1): 175-186, 1998.

Gomes ATB, Coelho LK., Secaf M, Módena JLP., Troncon LE de A, de Oliveira RB: Accuracy of the 14C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. Sao Paulo Med J/Rev Paul Med, 120 (3): 68-71, 2002.

Goh KL, Chan WK., Shiota S, Yamaoka Y: Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. NIH, 16(01): 1–9, 2011.

Goji S, Tamura Y, Sasaki M, Nakamura M, Matsui H, Murayama SY, Masahide Ebi M, Ogasawara N, Funaki Y, Kasugai K: *Helicobacter suis*-infected nodular gastritis and a review of diagnostic sensitivity for *Helicobacter heilmannii*-Like Organisms. Case Rep Gastroenterol, 9: 179–187, 2015.

Grübel P, Hoffman JS, Chong FK, Burnstein NA, Mepani C, Cave DR: Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol, 35(6): 1300–1303, 1997.

Guimarães NM, Azevedo NF, Vieira MJ, Figueiredo C: Water-induced modulation of *Helicobacter pylori* virulence properties. Mem Inst Oswaldo Cruz, 109(4): 414–419, 2014.

Guiney DG, Hasegawa P, Cole SP: *Helicobacter pylori* preferentially induces Interleukin 12 (IL-12) rather than IL-6 or IL-10 in human dendritic cells. Infect Immun, 71(7): 4163–4166, 2003.

Gulcan EM, Varol A, Kutlu T, Cullu F, Erkan T, Adal E, Ulucakli O, Erdamar S: *Helicobacter pylori* stool antigen test. Indian J Pediatr Volume, 72(8): 675-678, 2005.

Güner A, Telli N: *Helicobacter pylori*: yeni bir gıda patojeni mi? Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg, 9(1): 51-63, 2012.

Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Baele M, Meyns T, Decostere A, Ducatelle R: *Gastric Helicobacters* in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. ASM, 22(2): 202-223, 2009.

Hammer M, Tyszkiewicz T, Wadstrom T, O'toole PW: Rapid Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by Polymerase Chain Reaction. J Clin. Microbiol, 30(1): 54-58, 1992.

Handt LK, Fox JG, Dewhirst FE, Fraser GJ, Paster BJ, Yan LL, Rozmiarek H, Rufo R, Stalis IH: *Helicobacter pylori* isolated from domestic cat: Public Health Implications. Infect Immun, 6: 2367-74, 1994.

Harris A: Treatment of *Helicobacter pylori*. WJG. 7(3): 303 – 307, 2001.

Hashemy HI: The Human Thioredoxin System: Modifications and clinical applications. Iran J Basic Med Sci, 14(3): 191-204, 2011.

Houghton JM, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, Cai X, Fox JG, Goldenring JR, Wang TC: Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. Reports Science, 26; 306(5701): 1568-1571, 2004.

Huang JQ, Hunt RH. Treatment after failure: the problem of non-responders. Gut, 45(1): 140–144, 1999

Hug I, Couturier MR, Rooker MM, Taylor DE, Stein M, Feldman MF: *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide is synthesized via a novel pathway with an evolutionary connectioto protein N-Glycosylation. Plos Pathog, 19; 6(3): 2010.

Hunt RH, Xiao SD, Megraud Leon-Barua FR, Bazzoli F, van der Merwe S, Vaz Coelho L.G., Fock M, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S , Goh KL, Wong BCY, Krabshuis J, Le Mair A: *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, 1-15, 2010.

Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, Merwe S, Vaz Coelho LG, Fock M, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S, Goh KL, Wong BCY, Krabshuis J, A Le Mair A: *Helicobacter pylori* in developing countries. JGLD, 20(3): 299-304, 2012.

Innis MA, Gelfand DH, White TJ: PCR Protocols. A guide to methods and applications. Academic Press, London, 1990.

Jalava K, Stephen LW, On SLW, Harrington CS, Andersen LP, Hänninen ML, Peter Vandamme PA: Cultured strain of "*Helicobacter heilmannii*," a human gastric pathogen, identified as *H. bizzozeronii*: evidence for zoonotic potential of *Helicobacter*. Emerging Infectious Diseases: 7(6): 1036-8, 2001.

Jankowski M, Spużak J, Kubiak K, Glińska-Suchocka K, Biernat N: Detection of *Helicobacter* spp. in the saliva of dogs with gastritis. Pol J Vet, 19(1): 133–140, 2016.

Jemilohun AC, Otegbayo JA: *Helicobacter pylori* infection: past, present and future. Review. PAMJ, (23): 216, 2016.

Jiang Q, Hiratsuka K, Taylor DE: Variability of gene Order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. Molecular Biology, 20(4): 833-842, 1996.

Joosten M, Lindén S, Rossi M, Tay ACY, Skoog E, Padra M, Peters F, Perkins T, Vandamme P, Nieuwerburgh FV, D'Herde K, Broeck WV, Flahou B, Deforce D, Ducatelle R, Marshall B, Haesebrouck F, Smeta A: Divergence between the highly virulent zoonotic pathogen *Helicobacter heilmannii* and its closest relative, the low-virulence "*Helicobacter ailurogastricus*" sp. nov. *Infect Immun*, 84(1): 293–306, 2016.

Jones KR, Whitmire JM, Merrel DS: A tale of two toxins: *Helicobacter pylori* CagA and VacA modulate host pathways that impact disease. *Front Microbiol. Review Article*, 1: 115- 23, 2010.

Kao JY, Zhang M, Miller MJ, Mills JC, Wang B, Liu M, Eaton KA, Zou W, Berndt BE, Cole TS, Takeuchi T, Owyang SY, Luther J: *Helicobacter pylori* immune escape is mediated by dendritic cell– induced Treg skewing and Th17 Suppression in mice. *NIH*, 138(3): 146-1054, 2010.

Kara B: CAG A Pozitif *H. pylori* enfeksiyonunda NOD1 E266K polimorfizmi ve klinik önemi. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Adana, 2008.

Kasapoğlu B, Türkay C: *Helicobacter pylori* 'de tedavi ve direnç. *Güncel Gastroenteroloji*. 12-3, 2008.

Kawasaki K, Nishio A, Nakamura H, Uchida K, Fukui T, Ohana M, Yoshizawa H, Ohashi S, Tamaki H, Matsuura M, Asada M, Nishi T, Nakase H, Toyokuni S, Liu W, Yodoi J, Okazaki K, Chiba T: *Helicobacter felis*-induced gastritis was suppressed in mice overexpressing thioredoxin-1, *USCAB Lab Invest*, (85): 1104–1117, 2005.

KC SR, Amatya GL: Association of mast cells with *Helicobacter pylori* infection in the antral mucosa. *JOL*, (1): 34-36, 2011.

Khoshnegah J, Jamshidi Sh, Mohammadi M, Shojaee Tabrizi A, Mohajerani N, and Zahraei Salehi T: Experimental infection of stray cats with human isolates of *Helicobacter pylori*. *IJVR*, (9)2: 150-157, 2008.

Kim JM, Kim JS, Lee JY, Youn HJ, Kim IY, Chee YJ, Oh YK, Kim N, Jung HC, Song IS: Vacuolating Cytotoxin in *Helicobacter pylori* water soluble proteins upregulates chemokine expression in human eosinophils via Ca⁺² influx, mitochondrial reactive oxygen intermediates, and NF- κ B activation. *Infect Immun*, 75 (7): 3373-81, 2007.

Konturek JW: Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. *J Physiol Pharmacol*, 54(3): 23-41, 2003

Kuipers EJ: Exploring the Link Between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Review article, AP & T*, 13 (1): 3-11, 1999.

Kuipers, EJ, Thijs JC, Festen HP: The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Aliment. Pharmacol Ther*, 9(2): 59–69, 1995.

Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ: Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Revi*, 19(3): 449-490, 2006.

Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler J-P, Bollen A, Gluppczysynski Y: Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: Comparison with Other Invasive Techniques and Detection of cagA Gene in Gastric Biopsy Specimens. *JCM*, 33(10): 2752–2756, 1995.

Lee JY, Kim N: Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Ann Transl Med*, 3(1): 10, 2015.

Leonardo H, Eusebi, Rocco M, Bazzoli Z And F: Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. *Review article. Helicobacter*, 19(1): 1–5, 2014.

Lesbros-Pantoflickova D, Corthe'sy-Theulaz I, Blum AL: *Helicobacter pylori* and probiotics. J Nutr, 137(3): 812-818, 2007.

Logan RPH, Walker MM: ABC of the upper gastrointestinal tract epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Clinical Review. BMJ, 323(7318): 920-2, 2001.

Lync AN: *Helicobacter pylori* and ulcers: A paradigm revised. <http://www.faseb.org/par>. 20.06. 2016.

Makristathis A, Pasching E, Schutze K, Wimmer M, Rotter ML, Hirchl AM: Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and Antigen Enzyme Immunoassay. JCM, 36(9): 2772-2774, 1998.

Malaty HM, Graham DY: Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. Gut, 35: 742-745, 1994.

Marshall BJ: *Helicobacter* Connections. NHMRC *Helicobacter pylori* Research Laboratory, QEII Medical Centre, Nedlands, WA 6009, Australia, Nobel Lecture, 2005.

Marshall BJ, Warren JR: Unidentified bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet, 8390: 1311-1315, 1984.

Maurer KJ, Ihrig M, Rogers AB, NG V, Bouchard G, Leonard MR, Carey MC, Fox JG: Identification of Cholelithogenic Enterohepatic *Helicobacter* species and their role in murine cholesterol gallstone formation. Gastroenterol, 128(4): 1023-1033, 2005.

McNulty Mc, Dent JC, Uff JS, Gear MWL, Wilkinsom SP: Detection of *Campylobacter pylori* by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. GUT, 30: 1058-1062, 1989.

Me'Graud F, Lamoulitte H: Review article: The treatment of refractory *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther, 17: 1333-1343, 2003.

Me'Graud F, Broutet N: Have we found the sources *H. pylori*? Review, Aliment Pharmacol Ther, 3: 7-12, 14, 2000.

Meining A, Kroher G, Stolte M: Animal reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii*: Results of a Questionnaire-Based Study. Scand J of Gastroenterol, 33(8): 795-798, 2009.

Meining A, Kroher G, Stolte M: Animal reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii*: Results of a Questionnaire-Based Study. Scand J Gastroenterol, 33(8) :795-798, 1998.

Meuler DA: *Helicobacter pylori* and bacterial theory of ulcers. National Center for Case Study Teaching in Science, University at Buffalo, State University of Newyork, 2011.

Miftahussurur M, Yamaoka Y: Diagnostic methods of *Helicobacter pylori* infection for epidemiological studies: Critical importance of indirect test validation. BioMed Research International, 2016: 14, 2016.

Mishra S, Singh S, Rao GR, Jain AK., Dixit VK., Gulati AK., Nath G: Detection of *Helicobacter pylori* in stool evaluation of Nested PCR and antigen detection. J Infect Dev Ctries, 2 (3): 206-210, 2008.

Misiewicz JJ., Harris A. W, Bardhan KD, Levi S, O'Morain C, Cooper BT, Kerr GD, Dixon MF, Langworthy H, Piper D: Lansoprazole *Helicobacter* Study Group: One week triple therapy for *Helicobacter pylori*: a multicentre comparative study. Gut, 41: 735-739, 1997.

Mitchel HM: *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. Washington (DC), ASM Press, 2001.

Mitchell P, Germain C, Fiori PL, Khamri W, Foster GR, Ghosh S, Lechler RI, Bamford K. B, Giovanna Lombardi G: Chronic exposure to *Helicobacter pylori* impairs dendritic cell function and inhibits Th1 development. *Infect Immun*, 75(2): 810–819, 2007.

Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL: *Helicobacter pylori*: Physiology and genetics. Washington (DC). ASM Press, 2001.

Monno R. , Margiotta M., Ierardi E. , De Giglio I. , Fumarola L. , Burattini O. , Di Leo A. , Pisani A. , Panella C. , Francavilla A. *Helicobacter heilmannii* infection of the antrum and duodenal bulb. *Clinical Microbiology Newsletter*, 28(5): 33-40, 2005.

Montemurro P, Nishioka H, Dundon WG, Bernard M, Giudice G, Rappuoli R, Montecucco C: The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a potent stimulant of mast cells. *Eur. J. Immunol*, 32: 671–676, 2002.

Moyat M, Velin D: Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *WJG*, 20(19): 5583-5593, 2014.

Nakamura M, Tkahashi T, Matsui H, Baniwa Y, Tkahashi S, Murayama SY, Serizawa H, Suzuki H, Hibi T: Alteration of antiogenesis *Helicobacter heilmannii*-induced Mucosa-associated Liphoid Tissue Lymphoma: Interaction with c-Met and hepatocyte growth factor. *J Gastroenterol Hepatol*, 29(4): 70-76, 2014.

Neiger R, Simpson KW: *Helicobacter* in dogs and cats-what's New? *Gastroenterology. World Congress WSAVA*, 2006.

Neiger R, Simpson KW: *Helicobacter* infection in dogs and cats: Facts and fiction. *J Vet Intern Med*, 14: 125–133, 2000.

Neiger R, Dieterich C, Burnens A, Waldvogel A, Corthey-Theulaz I, Halter F, Lauterburgs B, Schmassmann A: Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. *J Clin Microbiol*, (36): 3, 634-637, 1998.

Norris CR, Marks SL, Eaton KA, Torabian SZ, Munn RJ, Solnick JV: Healthy cats are commonly colonized with “*Helicobacter heilmannii*” that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol*, 37(1): 189–194, 1999.

Okiyama Y, Matsuzawa K., Hidaka E, Sano K., Akamatsu T, Hiroyoshi O: *Helicobacter heilmannii* infection: Clinical, endoscopic and histopathological features in Japanese patients. *Pathol Int*, 55(7): 398-404, 2005

Osaki T, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Zaman C, Takahashi M, Fujiwara S, Kamiya S: Analysis of intra-familial transmission of *Helicobacter pylori* in Japanese families. *J Med Microbiol*, 64: 67–73, 2015.

Ossato M, Ayub K., Le H-H, Reddy R, Graham DY: Houseflies are an unlikely reservoir or vector for *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*, 36(9): 2786-8, 1998.

O’Toole PW, Lane MC, Porwollik S: *Helicobacter pylori* motility. *Microbes Infect*, 2: 1207-1214, 2000.

Owen RJ: *Helicobacter species* classification and identification. *British Medical Bulletin*, 1: 17-30, 1998.

Park JH, Hong JJ, Park JH: Experimental Infection of mice with tightly coiled spiral bacteria (*Candidatus Helicobacter suis*) Originating from the pig stomach. J Comp Path, 129: 154–160, 2003.

Pattiyathane P, Vilaichone R, Chaichanawongsaroj N: Effect of curcumin on *Helicobacter pylori* biofilm formation. Afr J Biotechnol, 19(8): 5106-5115, 2009.

Perez-Perez GI, Rothenbacher D: Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter, 9(1): 1–6, 2004.

Perkins SE, Yan LL, Shen Z, Hayward A, Fox Murph and JG: Use of PCR Culture to detect *H. pylori* in naturally infected cats following triple antimicrobial therapy. Antimicrob Agents Chemother, 40(6): 1486–1490, 1996.

Polat M, Köksoy S: Gastrointestinal sistemde tip 1 kanserojen bir bakteri; *Helicobacter pylori*. MAKÜ Sag Bil Enst Derg, 3(2): 84-96, 2015.

Priestnall SL, Wiinberg B, Spohr A, Neuhaus B, Kuffer M, Wiedmann M, and Simpson KW: Evaluation of “*Helicobacter heilmannii*” subtypes in the gastric mucosae of cats and dogs. JCM, 42(5): 2144-2151, 2004.

Rahman M. T, Uddin M. S, Sultana R, Moue A, Setu M: Polymerase Chain Reaction (PCR). Review article, AKMMC J. 4(1): 30-36, 2013.

Rasmussen LT, de Labio RW, Neto AC, Silva LC, Queiroz VF, Smith MAC, Payão SLM: Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies, saliva and dental plaques of dyspeptic patients from Marília, São Paulo, Brazil: presence of *vacA* and *cagA* genes. JVAT TD, 18(2): 180-187, 2012.

Sağnak S, Özgür NY: İstanbul Yöresinde sağlıklı ve klinik belirti gösteren köpeklerde *Helicobacter pylori* varlığının kültür, PCR ve RFLP ile saptanması, İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 37(2): 149-159, 2011.

Sarıtaş F: *Helicobacter pylori* ve pankreas kanseri ilişkisi. T. C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. İç Hastalıklar Kliniği. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2009.

Savarino V, Vigneri S, Celle G: The 13C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Gut, 45(1): 118–122, 1999.

Shimoyama T: Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. World J Gastroenterol, 45(19): 8188–8191, 2013.

Shuto R, Fujioka T, Kubota T, Nasu M: Experimental gastritis induced by *Helicobacter pylori* in Japanese monkeys. Infect Immun, 61(3): 933-9, 1993.

Selçukcan F: Pediatrik yaş grubunda *Helicobacter pylori* kaynaklı gastrit tanısında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması ve tedavi sonrası takipte noninvazif bir test olarak üre nefes testinin kullanılabilirliği. T. C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nükleer Tıp Kliniği, Uzmanlık Tezi, 2008.

Simpson K, Nieger R, DeNovo R, Sherding R: The role of *Helicobacter spp.* infection to gastric disease, J Vet Intern, 14: 223-227, 2000.

Simpson K, Strauss-Ayall D, Scanziani E, Straubinger RK, McDonough PL, Straubinger A, F, Chang YF, Domenechini C, Arebi N, Calam J: *Helicobacter felis* infection is associated with Lymphoid Follicular Hyperplasia and mild gastritis but normal gastric secretory function in cats. Infect Immun, 68(2): 779-90, 2000.

Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF, Schorah CJ, Taylor JD, Rathbone BJ, Heatley RV, Axon ATR: Acute *Helicobacter pylori* infection: Clinical features, local and systemic immune

response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut*, 32: 1415-1418, 1991.

Soltezs V, Zeeberg B, Wadstrom T: Optimal survival of *Helicobacter pylori* under varioustransport conditions. *J Clin Microbiol*, 30(6): 1453-1456, 1992.

Somily AM, Morshed GM: An update of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* in the Kingdom of Saudi Arabia. Review. *J Infect Dev Ctries*, 9(8): 806-814, 2015.

Sönmez C: *Helicobacter pylori* infeksiyonu tanısında yeni yaklaşımlar. Güncel Gastroenteroloji, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara, 2002.

Strauss-Ayalia S, E Scanzianib E, Denga D, Simpson KW: *Helicobacter* spp. infection in cats: evaluation of the humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter* spp. *Vet Microbiol*, 79(3): 253-65, 2001.

Sturegard E, Sjunesson H, Ho B, Willen R, Aleljung R, NG HC, Wadstrom T: Severe gastritis in guinea-pigs infected with *Helicobacter pylori*. *J Med Microbiol*, (47): 1123-1129, 1998.

Sykora J, Hejda V, Varvarovska J, Stozicky F, Gottrand F, Siala K: *Helicobacter heilmannii* related gastric ulcer in childhood. Case Report, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 36 (3): 410-3, 2003.

T. C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Sürüm: 1.1 / B-TP-22 / Test Prosedürleri / Bakteriyoloji, Oksidaz Testi, 2015.

Terio KA, Munson L, Marker L, Aldridge BM, Solnick JV: Comparison of *Helicobacter* spp. in cheetahs (*Acinonyx jubatus*) with and without Gastritis. *JCM*, 43(1): 229-234, 2005.

Testerman TL, Morris J: Beyondthe Stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *WJG*, 20(36): 12781-12808, 2014.

Thomas G. Blanchard T. G. and Nedrud J. G. Laboratory maintenance of *Helicobacter species*. *Curr Protoc Microbiol*, NIH, 2006.

Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum K A, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson D, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzegerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JD, Fujii C, Bowman C, Wathley L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC: The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 6642(388): 539-47, 1997.

Torkan S, Shahreza HSS: *VacA*, *CagA*, *IceA* and *OipA* genotype status of *Helicobacter pylori* isolated from biopsy samples from Iranian dogs. *Trop J Pharm Res*, 15(2): 377-384, 2016.

Toyoda T, Yamamoto M, Takasu S, Ogawa K, Tatematsu M, Tsukamoto T: Molecular mechanism of gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected rodent models. *Diseases*, 2: 168-186, 2014.

Trebesius K, Adler K, Vieth M, Stolte M, Haas R: Specific detection and prevalence of *Helicobacter heilmannii*-Like Organisms in the human gastricmucosa by fluorescent In Situ Hybridization and partial 16S Ribosomal DNA sequencing. *J Clin Microbiol*, 39(4): 1510-6, 2001.

Tünger Ö: *Helicobacter pylori* infeksiyonları. *İnfekt Derg*, 22(2): 107-115, 2008.

Uotani T, Graham DY: Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Ann Transl Med*, 3(1): 9, 2015.

Urgesi R, Cianci R, Riccioni ME: Update on triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*: current status of the art. Clin Exp Gastroenterol, (5): 151–157, 2012.

Urita Y, Watanabe T, Kawagoe N, Takemoto I, Tanaka H, Kijima S, Kido H, Maeda T, Sugasawa Y, Miyazaki T, et al. Role of infected grandmothers in transmission of *Helicobacter pylori* to children in a Japanese rural town. J Paediatr Child Health, 49: 394–398, 2013.

Uyanık MH, Aktaş O: *Helicobacter pylori*'nin mikrobiyolojik tanısı. Derleme, EAJM, 39, 2007.

Ülgen S, Ergin S, Şennazlı G, Bakırel U: Detection of *Helicobacter heilmannii* type II and *Helicobacter pylori* in dogs and their role in the development of gastritis. Turk J Vet Anim Sci, 40: 81-88, 2016.

Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Gatta L, Geminiani A, Miglioli M: Invasive and non-invasive tests for *Helicobacter pylori* infection. Review article. AP & T, 14(3): 13-22, 2000.

Van den Bulck K, Decostere A, Gruntar I, Baele M, Krt B, Ducatelle R, Haesebrouck F: In Vitro antimicrobial testing of *Helicobacter felis*, *H. bizzoernii*, and *H. salamonis*. Antimicrob Agents Chemother, 49(7): 2997–3000, 2005.

van Duynhoven Y, de Jonge R: Transmission of *Helicobacter pylori*: a role for food? Bulletin of the WHO, 79(5): 455-460, 2001.

van Loon S, Bart A, den Hertog EJ, Nikkels PGJ, Houwen RHJ, De Schryver JEAR, Oudshoorn JH: *Helicobacter heilmannii* Gastritis caused by cat to child to transmission. Case Report, J Pediatr Gastroenterol Nutr, 36(3): 407-9, 2003.

van Vliet HMA, Poppelaars SW, Davies BJ, Stoof J, Bereswill S, Kist M, Penn CW, Kuipers EJ, Kusters JG: NikR mediates Nickel-Responsive transcriptional induction of urease expression in *Helicobacter pylori*. Infect and Immun, 70(6): 2846-2852, 2002.

Varannes SB: Quel traitement peut-on proposer après un échec d'éradication de *Helicobacter pylori*? Gastroenterologie Clinique et Biologie, 27(3): 478-483, 2008.

Vukojevic J, Nikolic I, Kukic B, Bogdanovic B, Nikin Z: *Helicobacter heilmannii* associated gastritis. Case report, Oncology Institute of Vojvodina, Sremska Kamenica, 19(3-4):73-75, 2011.

Weyden MBVD, Armstrong RM, Gregory A: The *Helicobacter* story illustrates some of the human hallmarks of revolutionary research. Med J Aust. 183(11): 612-614, 2005.

Worku ML, Sidebotham RL, Walker MM, Keshavarz T, Karim QN: The relationship between *Helicobacter pylori* motility, morphology and phase of growth: implications for gastric colonization and pathology. Microbiology, 145: 2803–2811, 1999.

www.allinahealth.org/CCS/doc/Consumer.../150484.htm. Rapid urease test - Allina Health. 27. 09. 2016.

www.endoscopiaveterinaria.com.br/.../18-helicobacter-em-c. 17.10. 2016.

www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeKardes.aspx?...17.10. 2016.

Yakoob J, Abbas Z, Khan R, Naz S, Ahmad Z, Islam M, Awan S, Jafri F, Jafri W: Prevalence of non *Helicobacter pylori* species in patients presenting with dyspepsia. BMC Gastroenterol, 12(3), 2-8, 2012.

Yang S, Rothman RE: PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis*, 4(6): 337-48, 2004.

Yıldırım M: Hayvanlardan *Helicobacter* türlerinin izolasyonu. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 1997.

Yılmaz YA: *Helicobacter pylori*: mikrobiyolojik tanı yöntemleri. Derleme, Hacettepe Med J, 35: 182-186, 2004.

Yokota S, Amano K, Fujii N: *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide as a possible pathogenic factor for gastric carcinogenesis. Gastritis and gastric cancer - New insights in gastroprotection, diagnosis and treatments. Edited by Dr. Paola Tonino, ISBN 978-953-307-375-0. Publisher InTech, Japan, 2011.

Young YA, Allager YP, Hardie JM: Morphological analysis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy. *Oral Microbiol Immunol*, 16(3): 178-81, 2011.

Xu J, Czinn SJ, Blanchard TG: Maintenance of *Helicobacter pylori* cultures in Agar stabs. *NIH*, 15(5): 477-480, 2010.

6. ÖZGEÇMİŞ

20. 05. 1978 yılında Hatay'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Hatayda tamamladı. 2002 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazanarak 2006 tarihinde mezun oldu. 2008 yılında Kafkas Fen Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda açılan Yüksek Lisans programını kazanarak 2010 tarihinde yüksek lisans programını tamamladı ve 2012 tarihinde Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın açmış olduğu Doktora Programını kazanarak doktora başladı.

