



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Enfeksiyöz ishallerde *Campylobacter jejuni* prevalansının
çeşitli yöntemlerle araştırılması**

**DOKTORA TEZİ
Bashar İBRAHİM**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Gül DURMAZ**

2016



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Enfeksiyöz ishallerde *Campylobacter jejuni* prevalansının
çeşitli yöntemlerle araştırılması**

**DOKTORA TEZİ
Bashar İBRAHİM**

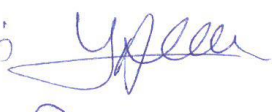
**DANIŞMAN
Prof.Dr. Gül DURMAZ**

2016

KABUL VE ONAY SAYFASI


Bashar İBRAHİM'in Doktora Tezi olarak hazırladığı "Enfeksiyöz ishallerde *Campylobacter jejuni* prevalansının çeşitli yöntemlerle araştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

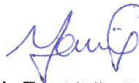
Tarih
30/05/2016

Üye: Prof. Dr. Yurdanur Aleğris 


Üye: Prof. Dr. Gül Dürmer 

Üye: Prof. Dr. S. Elif KÖRÇAN 

Üye: Doç. Dr. E. GÖZ ÖNÜKÖR 

Üye: Doç. Dr. Yasemin ÖZ 

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~30/06/2016~~ tarih ve ~~1096/5188~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veyisi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü 

Özet

Campylobacter enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülen zoonotik enfeksiyonlardır. Başta kümes hayvanları olmak üzere bakteri ile kontamine olmuş besinlerin, suların ve pastörize edilmemiş sütlerin tüketimi sonucu insanlara bulaşmaktadır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının büyük bir kısmından *C. jejuni* sorumludur. *C. jejuni* sıklıkla kendi kendini sınırlandıran hafif bir sekretuar ishale neden olmaktadır. Ancak kanlı mukuslu dışkılamanın olduğu dizanteri formun ile de seyredabilmektedir (Yılmaz ve diğ., 2005).

Çalışmamızda, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına bakteriyolojik kültür ve parazitolojik inceleme için, gönderilen ishalleri dışkı örneklerinde, *C. jejuni* varlığını geleneksel ve moleküler yöntemler ile 6 aylık bir periyotta saptamayı amaçladık. Dışkı örneklerinden *Campylobacter jejuni* izolasyonu için, koyun kanı içeren Skirrow selektif agar besiyeri kullanıldı.

Toplam 300 ishalleri dışkı örneğinin 144'ü (% 48) kadın; 156'sı (% 52) ise erkek hastalara ait olduğu belirlendi.

Hastaların yaş dağılımı 102'si (0-4), 45'i (5-9), 13'ü (10-14), 47'si (15-19), 59'u (20-24), 21'i (25-29) ve 13'ü ≥ 30 yaş ve üzeri dağılım göstermekteydi. *Campylobacter jejuni* 3 ay-4 yıl pediatrik yaş grubunda çalışılan 102 (% 34) örnekten 3'ünde (% 3) saptandı. Geleneksel yöntemle toplam 300 dışkı örneğinin 3'ünde (% 1) *C. jejuni* varlığı saptanırken moleküler yöntemle 5 (% 2) örnekte pozitiflik gözlemlendi.

Sonuç olarak çocuk ishallerine en sık viral etkenler neden olsa da bakteriyel etkenler içinde de *C. jejuni*'nin göz ardı edilmemesi ve rutin dışkı kültürlerinde *C. jejuni* izolasyonuna yönelik işlemlerin de yapılması gerekliliği ve geleneksel yöntemler ile gözden kaçırılabilen *Campylobacter jejuni*'nin moleküler yöntemler kullanılarak araştırılmasının yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler

Campylobacter jejuni, dışkı kültürü, prevalans, RT-PCR

Summary

Campylobacter infections are zoonotic infections that widespread all over the world. Primarily this infection prevails in poultries, but the main root of transmission to human is through the consumption of contaminated food, water and unpasteurized milk. The majority of *Campylobacter* infections are caused by *C. jejuni*. *C. jejuni* often causes a mild self-limiting secretory diarrhea. However, it can be watched with dysentery form that had bloody mucus stool (Yilmaz, et al., 2005)

In this study, from the stool samples that were sent to the department of Clinical Microbiology for bacteriological and parasitological investigation, we aimed to determine the presence of *C. jejuni* in conventional and molecular methods with a 6-month period. For isolation of *Campylobacter jejuni* from fresh diarrheal stool samples, the selective weight of Skirrow that contain the sheep blood

From a total of 300 stool samples tested by both conventionally and molecular methods, 144 (48 %) were females, 156 (52 %) were males. The age distribution of the patients, 102 (0-4), 45 (5-9), 13 (10-14) 47 (15 -19), 59 (20-24), 21 (25-29) and 13 showed a distribution ≥ 30 years and older. From 102 (34 %) of the sample of *Campylobacter jejuni* that studies 3 months to 4 years in the pediatric age group, 3 (3 %) were detected. Using traditional methods out of a total of 300 stool samples, in 3 (1 %) the presence of *C. jejuni* was detected using traditional methods; positivity shown in 5 (2 %) samples while using molecular methods.

In conclusion, the test for *Campylobacter jejuni* should be routinely included in our laboratories because of its importance as a cause of diarrhea in children and from epidemiological point of view also. Hence, the examination of *Campylobacter jejuni* using molecular methods is found to be important methods. for it could be overlooked while using traditional.

Keywords

Campylobacter jejuni, stool culture, prevalence, RT-PCR

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI...	iv
Özet	v
Summary	vi
İçindekiler	vii
Tablo Dizini	ix
Şekil Dizini	x
Resim Dizini	xi
Simge ve Kısaltmalar Dizini	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	3
2.3. Morfolojik ve Boyanma Özellikleri	5
2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri	6
2.5. Virulans Faktörleri ve Patogenez	7
2.6. Yaptığı Hastalıklar	9
2.6.1. Gastroenterit	9
2.6.2. Guillain Barre Sendromu	10
2.6.3. Reaktif Artrit	10
2.6.4. Bakteremi	10
2.7. İmmünite	11
2.8. Epidemiyoloji	11
2.9. Antimikrobiyal Ajanlar ve Dış Ortam Koşullarına Dayanıklılık	14
2.10. Tanı	15
2.10.1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması	15
2.10.1.1. Dışkı ve Rektal Sürüntü Örnekleri	15
2.10.1.2. Kan	16
2.10.2. Mikroskopik İnceleme	16

2.10.3. Kùltür	16
2.10.4. İdentifikasyon	17
2.10.5. Serolojik Testler	19
2.10.6. Molekùler Yöntemler	20
2.11. Tedavi	20
2.12. Korunma ve Kontrol	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. <i>Campylobacter jejuni</i> izolasyonu	22
3.1.1. <i>Campylobacter</i> Sellektif Agar Besiyeri(Skirrow) İçeriği ve hazırlanması	23
3.2. <i>Campylobacter jejuni</i> İdentifikasyonu	23
3.2.1. Katalaz Testi	24
3.2.2. Oksidaz Testi	24
3.2.3. Hızlı HippuratHidroliz Testi	24
3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi	25
3.4. Molekùler Tanı	26
3.4.1. BD MAX Sistem İçeriği ve Kullanılan Ekipmanlar	26
3.4.2. Molekùler Testin Yapılışı	27
3.5. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR DİZİNİ	48
8. ETİK KURUL ONAY	66
9. TEŞEKKÜR	67
10. ÖZGEÇMİŞ	68

TabloDizini

Tablo 1: <i>Campylobacter</i> türlerinin eski ve yeni adlandırılmaları.....	4
Tablo 2: <i>Campylobacter jejuni</i> ve <i>coli</i> için EUCAST Klinik Sınır Değerler.....	15
Tablo 3: <i>Campylobacter jejuni</i> izolasyonu için seçici besiyerlerinin formülleri.....	17
Tablo 4: <i>Campylobacter</i> tür ayrımı için akış şeması.....	18
Tablo 5: Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin identifikasyonu.....	19
Tablo 6: <i>Campylobacter jejuni</i> için EUCAST Klinik Sınır Değerler.....	26
Tablo 7: A, B ve C RT-PCR Enterik Bacterial Panel (BD MAX™) ile değerlendirme ve analizler.....	28
Tablo 8: Cinsiyete göre üreme saptanan örnek sayısı.....	31
Tablo 9: Yaş gruplarına göre çalışılan ve üreme saptanan örnek sayısı.....	32
Tablo 10: <i>C. jejuni</i> varlığı saptanan ishallerin makroskopik incelenmesine göre hastaların yaş dağılımı (n=300).....	32
Tablo 11: <i>C.jejuni</i> suşlarının antimikrobyal duyarlılıkları(n=3).....	33
Tablo 12: Yaş gruplarına göre çalışılan ve pozitiflik saptanan örnek sayısı.....	33
Tablo 13: Kültür ve moleküler yöntemle saptanan <i>C.jejuni</i> pozitifliği (n=300).....	34
Tablo 14: Moleküler testlerle <i>C.jejuni/coli</i> varlığı saptanan ishallerin makroskopik incelenmesi.....	34
Tablo 15: Moleküler test ve kültür ile saptanan enterik patojenlerin sayısı ve yüzdeleri (n=300)	35
Tablo 16: Türkiye’de 1986-2002 yılları arasında <i>C.jejuni</i> izolasyonlarını gösteren bazı çalışmalar	38
Tablo 17: Çeşitli ülkelerde <i>C.jejuni</i> insidansı	39

Şekil Dizini

Şekil 1: Gastroenterit etkeni olarak izole edilen filogenetik <i>C.jejuni</i> ile yakın ilişkili türler.....	5
---	---

Resim Dizini

Resim 1: <i>C. jejuni</i> 'nin çevre, gıda ve hayvanlardaki yaşam siklusu.....	12
Resim 2: <i>Campylobacter</i> kolonileri (Skirrow besiyerinde üreyen saydam, su damlası görünümünde koloniler)	23
Resim 3: Katalaz testi.....	24
Resim 4: Oksidaz testi.....	24
Resim 5: Hippurat Hidroliz testi.....	25
Resim 6: BD MAX TM Enterik Bacterial Panel.....	26

Simge ve Kısaltmalar

- DNA : Deoksiribonükleik asit
RNA : Ribonükleik asit
rRNA : Ribozomal RNA
GBS : Guillain-Barre Sendromu
PCR : Polymerase Chain Reaction
Ig : İmmünglobulin
ark. : arkadaşları
ABD : Amerika Birleşik Devletleri
 μg : Mikrogram
 μl : Mikrolitre
ELISA: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
BAP : Bilimsel Araştırma Projeleri
MHA : Mueller-Hinton Agar
MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyon
LPS : lipopolisakkarit
PEB1 : periplasmic binding protein
cAMP : Siklik adenozin monofosfat
CDT : Cytolethal distending toksin
CadF : *Campylobacter* adhezyon protein
ABC : multidrug ATP Binding Casset
CAT : Cefoperazone Amphotericin Teicoplanin
CSM : Charcoal based Selectif Medium
CCDA: Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar
CVA : Cefoperazone Vankomisin Amfoterisin B
AIDS : Acquired Immune Deficiency Syndrome
EHEC : Enterohemorajik *E. coli*
EIEC : Enteroinvazif *E. coli*
CDT : Cytolethal distending toksin.
VBNC : Viable but non-culturable
ATCC : American Type Culture Collection

SPSS : Statistical Package for Social Scienses

ESOGÜ : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

β -NAD : β -Nicotinamide adenine dinucleotide

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Campylobacter enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülen zoonoz olup başta kümes hayvanları olmak üzere bakteri ile kontamine olmuş besinlerin, suların ve pastörize edilmemiş sütlerin tüketimi sonucu bulaşmaktadır. Hastalık, genellikle akut gastroenterit şeklindedir. Gelişmiş ülkelerde *Campylobacter* türlerinin neden olduğu gastroenteritlerin % 90'ından *C. jejuni*, % 5-10'undan da *C. coli* sorumludur. *C. jejuni* (Taş E, 2004; Yılmaz ve diğ., 2005).

C.jejuni suşunun neden olduğu gastroenteritler sıklıkla kendi kendini sınırlandıran hafif bir sekretuar ishal formundadır. Ancak kanlı mukuslu dışkılamanın olduğu dizanteri formunda da seyredabilmektedir. *C.jejuni* enfeksiyonları sonrasında gelişen komplikasyonlar Guillain-Barre sendromu (GBS) ve reaktif artrit gibi otoimmün hastalıklardır. *C. jejuni* nadiren bakteremi etkeni olarak da görülebilmektedir. Hipogama-globülinemili hastalarda *C. jejuni* enfeksiyonları ciddi seyretmektedir (Murray PR, 2010; Sav H, 2012).

Campylobacter jejuni tanısında kültür, direkt mikroskopi, *tuf* gen bölgesinin tespitine dayanan moleküler yöntemler ve epidemiyolojik araştırmalar için serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Rutin bakteriyolojik dışkı kültürlerinde araştırılan 3 patojen *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* cinsi bakterilerdir. *Shilgella* ve *Salmonella* bakterileri için rutin olarak kültürleri yapılan bakterilerdir. *Campylobacter* cinsi bakterileri için ise; seçici besiyeri, mikroaerofilik ortam ve 42°C'de inkübasyona gereksinimlerinin olması nedeniyle genellikle rutin dışkı kültürlerinde özel istek olmadıkça aranması ihmal edilmektedir (Corry L ve diğ., 1995; Taylor B., 2004; Mortensen J., 2015).

Çalışmamızda, ESOGÜ (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi) Hastanesine başvuran akut ishalleri hastalara ait parazitolojik inceleme veya bakteriyolojik kültür amacıyla Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinde geleneksel ve moleküler yöntemler kullanılarak *Campylobacter jejuni* varlığının 6 aylık bir zaman diliminde

araştırılması, tanıda kullanılan mikrobiyolojik yöntemlerin karşılaştırılması ve bölgesel nitelikte epidemiyolojik veri oluşturabilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Campylobacter cinsi bakterilerle ilgili ilk gözlemler 1880'li yılların sonlarına dayanmaktadır. Yirminci yüzyılın başında *Campylobacter*'lerin ishale yol açtığı bildirilmiştir. İlk olarak 1886 yılında Theodor Escherich tarafından "kolera infantum" sonucu hayatını kaybeden çocukların kolonlarından spiral bakteri olarak tanımlanmış, fakat bakteri kültürde üretilmemiştir. Sonraki yıllarda gastrointestinal sistemde spiral şeklinde bakteriler tanımlanmışsa da kültürlerin başarısız olması, bu bakterilere duyulan ilginin azalmasına neden olmuştur (Hasçelik G, 2008).

Mc Fadyean ve ark. 1913 yılında koyunlarında *Vibrio*'ya benzeyen bir bakteri bulduklarını bildirmişler ve bu mikroorganizmayı *Vibrio* cinsi içerisinde değerlendirerek "*Vibrio fetus*" olarak adlandırmışlardır. Jones ve ark. 1931 yılında bu bakteriyi sığırların jejunumundan izole ettiklerini ve bunları *Vibrio jejuni* olarak isimlendirdiklerini bildirmişlerdir (McFadyean ve diğ., 1913; Jones S ve diğ.; 1931).

Vincent ve ark. 1947 yılında insanlarda abortus görülen bir kadının kanından izole etmişler, 1963 yılında ise Sebald ve Veron bu bakterilere *Campylobacter* adını vererek gerçek *Vibrio*'lardan ayırmışlardır. Skirrow, 1977 yılında *Campylobacter* cinsi bakterilerin selektif kültür yöntemini geliştirerek dışkıdan kolayca izolasyonunu sağlamıştır. Sonraki yıllarda *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni* ve *C. sputorum* türleri *Campylobacter* cinsi içerisine alınmış ve *Campylobacter* cins adı genel olarak bilim dünyasında kabul görmeye başlamıştır (Butzler P ve diğ., 1973; Veron M ve diğ., 1973; Skirrow B, 1977; Engberg J., 2006 ; Hasçelik G, 2008).

2.2. Sınıflandırma

İlk kez 1913 yılında tanımlanan bir *Campylobacter* suşu *Vibrio fetus* olarak adlandırılarak uzun süre *Vibrionaceae* ailesinde *Vibrio* cinsi içinde incelenmiştir. Sebald ve Veron 1963 yılında bu mikroorganizmaların biyokimyasal ve immünolojik özellikleri ile G+C içeriğine göre sınıflandırma

yeniden düzenlemiş ve önceden *V. jejuni* olarak adlandırılan *Campylobacter* cinsine dahil edilerek *C. jejuni* olarak adlandırılmıştır. *Campylobacter* cinsi bakteriler mikroaerofilik, nonfermentatif metabolizma ya ve düşük DNA Guanin+Sitozin (G+C) baz kompozisyonuna (% 27-47) sahip olmaları nedeniyle *Vibrio* cinsinden ayrılmıştır (Tablo 1). (Veron M ve diğ., 1973; Vandamme P, 1991; Özkan Ö, 2012)

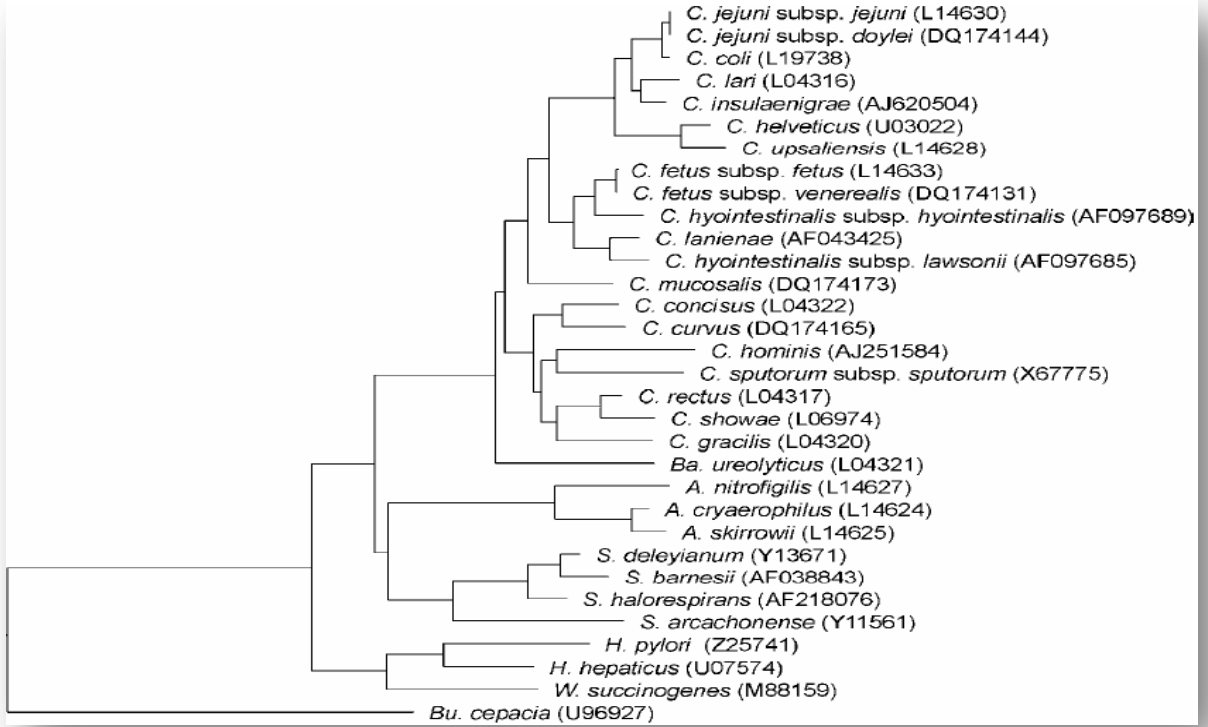
Tablo 1: *Campylobacter* türlerinin eski ve yeni adlandırılmaları (Stern N, 1992; Arda ve diğ., 1994)

Eski tanımlama	Yeni tanımlama
Related vibrio, <i>V. jejuni</i> , <i>C. fetus</i> subsp. <i>Jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
<i>V. coli</i> , <i>C. fetus</i> subsp. <i>Jejuni</i>	<i>C. coli</i>
<i>Vibrio fetus</i> , <i>V. fetus</i> var. <i>intestinalis</i> , <i>C. fetus</i> subsp. <i>İntestinalis</i>	<i>C. fetus</i> subsp. <i>Fetus</i>
<i>V. fetus</i> , <i>V. fetus</i> var. <i>fetus</i> , <i>C. fetus</i> subsp. <i>Fetus</i>	<i>C. fetus</i> subsp. <i>Veneralis</i>
<i>V. fecalis</i> , <i>C. Fecalis</i>	<i>C. sputorum</i> subsp. <i>Fecalis</i>
<i>C. laridis</i>	<i>C. lari</i>
<i>V. sputorum</i> , <i>C. sputorum</i> subsp. <i>Sputorum</i>	<i>C. sputorum</i> subsp. <i>Sputorum</i>
<i>V. sputorum</i> subsp. <i>Mucosalis</i>	<i>C. mucosalis</i>
(Katalaz negatif, zayıf <i>campylobacter</i> 'ler	<i>C. upsaliensis</i>
<i>Wolinella curva</i>	<i>C. curvus</i>
<i>V. bubulus</i> , <i>C. sputorum</i> subsp. <i>Bubulus</i>	<i>C. sputorum</i> subsp. <i>Bubulus</i>

Günümüzde, *Proteobacteria* grubuna bağlı epsilon alt grubu *Epsilon proteobacteria* içerisinde yer alan *Campylobacteraceae* familyasında, *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* cinslerinin bulunduğu ve *Campylobacter* cinsine ait 17 (*C. jejuni*, *C. lari*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. helveticus*, *C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. mucosalis*, *C. coccisus*, *C. curvus*, *C. showae*, *C. rectus*, *C. sputorum*, *C. gracilis*, *C. lanienae*, *C. hominis*, *C. insulaenigrae*) tür olduğu tespit edilmiştir. Bu türlerden 12 tanesinin insanlarda enfeksiyona neden olduğu belirlenmiştir (S.L.W. On., 2001; Çakmak Ö, 2010).

C. jejuni, *C. coli*, *C. lari*, *C. fetus* ve son yıllarda *C. upsaliensis* barsakta en fazla enfeksiyona neden olan türler olarak bildirilmiştir. Bunların dışında daha az sıklıkta *C. sputorum* ve *C. hyointestinalis* gibi türler insanda barsak dışı enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiştir.

(Hasçelik G. 2008). Hansson tarafından *Campylobacter* cinsi bakterilerle filogenetik ilişkili bakteriler 16S rDNA gen analizi yapılan şekil1'de gösterilmiştir (Hansson I, 2007).



Şekil 1: Gastroenterit etkeni olarak izole edilen filogenetik *C.jejuni* ile yakın ilişkili türler (Hansson I, 2007)

2.3. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Campylobacter ismi, Yunanca "kıvrık çomakçık" (kampylos: kıvrık, bacter: çomakçık) anlamına gelmektedir. *Campylobacter* cinsi bakteriler ince olduklarından dolayı gram boyamada iyi görünmemektedir. Ancak zıt boya olarak safranin yerine karbol fuksin kullanılırsa yada safranin normal boyanma süresinden 2-3 dakika daha fazla bekletilirse daha net görülmektedirler. Wang ve ark. yaptıkları bir çalışmada 842 dışkı örneğinde Gram boyama yönteminin duyarlılığını % 89 olarak bulmuşlardır. *Campylobacter* türleri genellikle 0,3-0,5 µm genişliğinde 1,5-5 µm uzunluğunda kıvrık, spiral, martı kanadı şeklinde, sporsuz ve gram negatif basillerdir. Eski kültürlerde veya oksijenle fazla temasta olduğunda

yuvarlak yada kokoid forma dönüşürler. Polar veya bazı türlerde bipolar olabilen flagellaları ile karanlık alan mikroskobunda tirbüşon tarzında hızlı hareket eden bakterilerdir (*C. gracilis* hareketsiz). Bu bakteriler flagelleri sayesinde ani ve ileriye doğru hareket ettiklerinden intestinal kolonizasyonda önemli rol oynamaktadırlar. *Campylobacter* suşları hızlı hareketli ve küçük boyutta oldukları için 0,45-0,65 µm por çapına sahip membran filtrelerden geçebilme özelliğine sahiptirler (Rollins D ve diğ., 1986; Nachamkin İ, 2002; Wang H ve diğ., 2004; Smibert R, 2005; Fitzgerald C ve diğ., 2007; Hasçelik G, 2008; Allos M, 2010).

2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri

Campylobacter türleri 35°C'de üremelerine rağmen, *C.jejuni*, *C.coli* ve *C.lari* en iyi 42°C'de, % 5 O₂, % 10 CO₂ ve % 85 N₂ içeren atmosferde, 48-72 saat içerisinde ürerler. Üreyebildikleri optimum pH değeri 6,5-7,5'tir (Skirrow B, 1993).

Oksijene gereksinim göstermeleri nedeniyle mikroaerofilik, karbondioksite gereksinim göstermeleri nedeniyle de kapnofilik bakteriler olarak değerlendirilmektedirler. Atmosferdeki CO₂ miktarı türler arasında üremenin optimizasyonu için önemlidir. DNA sentezinde görevli oksijen bağımlı ribonükleotid redüktaz enziminin aktivasyonu için % 5-15 O₂ konsantrasyonunda oksijene ihtiyaç duyan *C.jejuni* ortamdaki yüksek oksijen yoğunluğunda üreyememektedir. Günümüzde termofilik *Campylobacter* cinsi bakterilerin üretilmesi için Campy-Pak veya Campy-Gen gibi mikroaerofil ortam sağlayan iyon zarfları kullanılmaktadır. Plaklar 42°C'de inkübasyonu ile dışkıda bulunan diğer termofilik olmayan *Campylobacter* türleri ve flora bakterilerinin üremesi baskılanırken termofilik türlerin izolasyonu kolaylaşmaktadır (Erdem B., 1999; Vandenberg O ve diğ., 2005).

Campylobacter türlerinin izolasyonunda kullanılan selektif besiyerleri kan içeren ve kan içermeyen besiyerleri olmak üzere ikiye ayrılır. Kan içeren selektif besiyerleri arasında Campy-CVA (sefoperazon, vankomisin,

amfoterisin), bunun yanında Skirrow (vankomisin, polimiksin B, trimetoprim), Butzler (basitrasin, novobiyosin, sikloheksimid, sefazolin, kolistin) ve Campy Bap (vankomisin, trimetoprim, polimiksin B, sefalotin ve amfopterisin B) besiyerleri yer almaktadır (Atlas RM., 2010).

Kan içermeyen selektif besiyerler ise; sefoperazon ve amfoterisin B içeren kömür-sefoperazon deoksikolat agar (CCDA), vankomisin, sefoperazon ve sikloheksimid içeren kömür temelli selektif besiyeri (CSM) ve sefoperazon, amfoterisin B ve teikoplanin içeren (CAT) besiyerleri geliştirilmiştir (Candan İ, 1985; Fitzgerald C., 2011).

Campylobacter kolonileri ortalama 48-72 saatlik inkübasyon sonrasında gözle görülebilir hale gelirler. Besiyerlerinde, gri renkli, baskın, düzensiz yada parlak renkli ve yuvarlak kenarlı gösteren kolonilerin oluştuğu gözlenmiştir (Arda M ve diğ., 2002; Ayala A ve diğ., 2010).

Kan ve steril vücut sıvıları gibi flora içermeyen örneklerden *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için, seçici besiyerine gerek yoktur. Bu amaçla kan kültür şişeleri, kanlı besiyeri yada çukulatamsı besiyeri kullanılabilir. Örnekler uygun besiyerlerine ekildikten sonra 48-72 saat mikroaerofilik atmosferde inkübasyona bırakılır. Bu süre sonunda saydam, hemoliz yapmayan *Campylobacter* kolonileri gözle görülebilmektedir (Hasçelik G, 2008).

Antimikrobiyal duyarlılık testi için ise, Mueller-Hinton agar besiyerine %5 defibrine koyun kanı ve 20 mg/L β -NAD (β -Nikotinamid Adenin Dinükleotid) eklenmesi EUCAST tarafından önerilmektedir (T.C Sağlık bakanlığı, 2015).

2.5. Virulans Faktörleri ve Patogenez

Campylobacter cinsi bakteriler akut enterite, bakteremiye ve barsak dışı enfeksiyonlarına yol açmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda, enterite en sık yol açan tür *Campylobacter jejuni* olarak bildirilmiştir. *Campylobacter* suşlarının mide asitine diğer barsak patojenlerinden daha duyarlı olduğu, duyarlılık oranının da suşlar arasında farklılık gösterdiği invitro şartlarda

yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kontamine gıda ve sularla birlikte konak tarafından *Campylobacter* suşlarının bol miktarda alınması ile mide asit engeli aşılmakta, jejunum, distal ileum ve kolon mukozalara invazyon gerçekleşmektedir. Mukozal yüzeylerde ülser, ödem ve kanama oluşur epitelyal bezlerde apseler ve lamina propriaya nötrofil, mononükleer hücreler ve eozinofil infiltrasyonu gerçekleşmektedir (Walker R ve diğ., 1986; Guerry P ve diğ., 1990; Wassenaar M, 1997; Ketley M., 2001).

Besinlerle birlikte mideden duodenuma geçen *C. jejuni* suşları burada da oksijen yoğunluğu düşük, yüksek osmolariteli, sınırlı demir ve bakterisidal etkili safra tuzları içeren olumsuz şartlara maruz kalmaktadır. Bu durum karşısında *C. jejuni* ve *C. coli*'nin birçok suşunda çoklu ilaç dirençli bakterilerde görülen multidrug ATP Binding Casset (ABC) transporter sistemin homoloğu olan Cme ABC multidrug efluks pompa sisteminin olduğu, hücre duvarını geçen toksik safra tuzlarının periplazmik alandan hücre dışına pompalandığı ileri sürülmüştür (Lin J ve diğ., 2003).

C. jejuni suşlarında, CadF, PEB1, JlpA olarak adlandırılan en az üç yüzey proteininin adezyondan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Suşlar duodenumu geçerek distal ileum ve kolona inmekte, burada epitelin yüzeyini örten mukus tabakasını geçerek, enterosit ve kolonositlerin yüzeyine kolonize olmaktadır. Mukozal bariyerlerin aşılmasında bakterinin tirbuşon tarzında hareket eden polar flagellası etkilidir. Flagellasını kaybetmiş suşların epitelyal hücreyle temasında azalma olduğu invitro deneylerle gösterilmiştir. (Newell G ve diğ., 1985; Mcsweegan E, 1986; Erdem B., 1999; Monteville R ve diğ., 2003)

Son zamanlarda, *Campylobacter*'lerin hücre duvarlarında bulunan ve *Campylobacter* adhezyon geni (*CadF*) tarafından kodlanan CadF proteini nin fibronektine bağlandığı gösterilmiş olup, in vivo ortamlarda yapılan çalışmalarda *C. jejuni* kanatlılara kolonize olması için *CadF* proteinin bulunması gerektiği bildirilmiştir. Bir diğer virulans faktörü olan periplasmic binding protein (PEB1) gram negatif bakterilerdeki gibi dış membran proteinidir. Diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi *Campylobacter*

lipopolisakkarit'lerinin (LPS) lipid A komponenti, endotoksin aktivitesine sahiptir (Konkel E ve diğ., 1997; Karakuş, S., 2011).

Campylobacter sistemik enfeksiyonlarında, salıverilen endotoksin nedeniyle sepsis ve şok meydana gelmektedir. Ayrıca bazı *C.jejuni* ve *C.coli* suşları çeşitli memeli hücrelerinde hasara yol açan sitotoksin salgılamaktadırlar (Erdem B., 1999).

Campylobacter jejuni suşları tarafından sentezlenen enterotoksinler hücre içinde siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyesinin yükselmesine ve hedef hücre reseptörlerine bağlanabilme yeteneğine sahip proteinler olarak tanımlanmakta olup en az altı farklı antijenik tip varlığı tespit edilmiştir. Enterotoksinler *V.cholerae* enterotoksine ve *E.coli* ısıya duyarlı toksine yapısal ve immunolojik olarak benzerlik göstermektedir. Bunlar in vitro hücre kültürlerindeki etkilerine göre;

1- HeLa hücrelerini aktive etmesine rağmen Vero hücrelerini aktive edemeyen 70 kDa büyüklüğündeki toksin.

2- HeLa ve Vero hücrelerini aktive eden sitotoksin.

3- Hemolitik etki gösteren sitotoksinler.

4- Shiga benzeri toksin.

5- Cytolethal distending toksin (CDT).

6- Hepatotoksinler olarak belirlenmiştir (Pickett C ve diğ., 1996; (Wassenaar T., 1997; Erdem B., 1999; Yıldız Ç, 2011).

2.6. Yaptığı Hastalıklar

2.6.1. Gastroenterit

Campylobacter jejuni enfeksiyonlarında ishale bol sulu ishalden (kolera benzeri) kanlı, mukuslu ve lökosit içeren dizanteri benzeri ishale dönüşebilmektedir. Barsak mukozasında yaygın ödem, hiperemi, mukozal parçalanma ve kanamalar ile karakterize değişiklikler oluşmaktadır. Ayrıca ileum ve jejunumun bazı bölgelerinde meydana gelen yangıya bağlı mezenterik adenitin şekillendiği de kaydedilmiştir. Yangısal olmayan sulu ishalede mukozal değişikliklere rastlanmadığı sulu ishalede kan, mukus ve

lökosit içermediği bildirilmiştir. Hastalığın inkübasyon dönemi alınan mikroorganizmanın miktarı ve virulansına göre değişmekle birlikte 3-7 gün arasında değişmektedir. Hastalık ishal ve abdominal kramp ile başlamaktadır. En sık görülen belirtiler ishal, halsizlik, ateş ve karın ağrısıdır. Hafif sıvı kaybıyla yumuşak ishale, ağır sulu ishale veya bol kanlı ishale kadar değişen belirtiler görülmektedir. Bazı hastalarda dışkılama sayısı 10'un üzerine çıkmaktadır. *Campylobacter* enteriti sıklıkla birkaç günde kendiliğinden düzelmektedir. Ancak hastaların % 5-20'sinde bir haftadan daha uzun sürebilmektedir (Carl S ve diğ; 1999; Çakmak Ö, 2010).

2.6.2. Guillain-Barre Sendromu

C. jejuni ve *C. upsaliensis* enfeksiyonları sonrasında gelişen periferik sinir sistemi otoimmün hastalığıdır. Hastalığın bazı *Campylobacter* suşlarının lipopolisakkaritleri ve periferik sinir ganglionları arasındaki antijenik benzerlik nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Nadir görülen bir hastalık olup, özellikle *C. jejuni* serotip O:19 serotipiyle yakından ilişkilidir (Murray R ve diğ; 2009).

2.6.3. Reaktif Artrit

Campylobacter enfeksiyonlarının geç komplikasyonu olarak ve daha çok HLAB27 pozitif kişilerde ortaya çıkmaktadır. Özellikle diz veya ayak bileği eklemlerinde şişme ve ağrı ile karakterizedir. Tıpkı Guillain-Barre sendromu'nda olduğu gibi semptomatik veya asemptomatik *C. jejuni* enfeksiyonları sonrasında ortaya çıkabilmektedir. *Campylobacter* enteritli hastaların % 1-2'sinde ishalin başlangıcından itibaren 4 gün-4 hafta içerisinde artrit başladığı bildirilmiştir (Anuli N ve diğ., 2013).

2.6.4. Bakteremi

Bakteremi, *C. jejuni* enfeksiyonlarının %1'inden daha azında ortaya çıkmaktadır. Ancak ileri yaşlarda ve immünsuprese hastalarda bu oranın arttığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmaya göre *C. jejuni* enteriti görülen 65

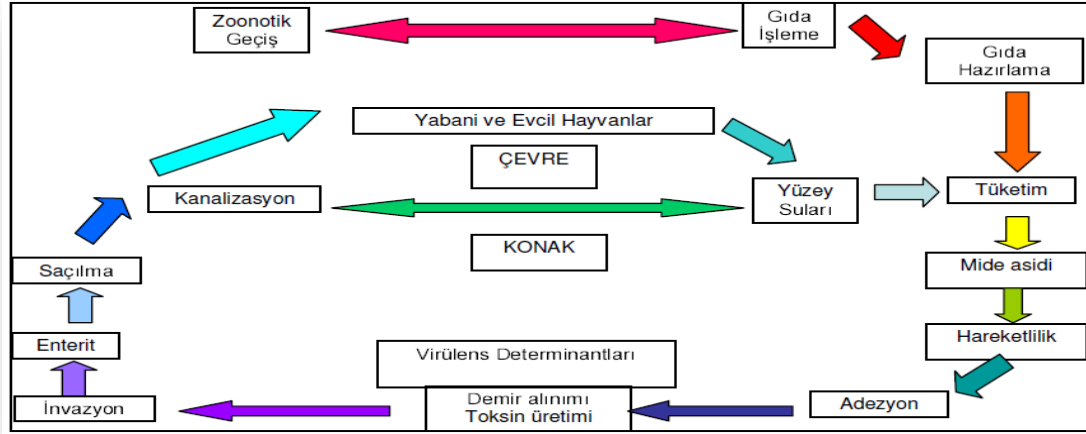
yaş ve üstü bireylerde her 1000 olgudan 5'inde geliştiği bildirilmiştir. Kandan izole edilen *Campylobacter* türlerinin çoğunu *C.jejuni* oluşturmaktadır (Skirrow ve diğ., 1993; Başustaoğlu ve diğ., 2001 Pacanowski ve diğ., 2008).

2.7. İmmünite

Hastaların serumlarında spesifik antikorlar gelişmektedir. Önce IgM ve sonra IgG titreleri yükselmekte, barsak sekresyonlarında özgül IgA antikorları saptanmaktadır. Türler arasındaki ortak antijenler nedeniyle bir *Campylobacter* türüne karşı gelişmiş antikorlar diğer türlerle de çapraz reaksiyon vermektedir. Gelişmiş olan ülkelerde endemik bölgelerde IgG tipi antikorlar hayatın ilk yılında pik yapmakta olup zamanla titre düşmekte, oysa IgA antikorların varlığı ömür boyu devam etmektedir. Ayrıca konjenital ve kazanılmış hipogamaglobulinemisi olan hastalarda *C. jejuni* enfeksiyonlarının daha ağır seyrettiği, humoral immunitenin korunmada rol oynadığı gösterilmiştir. Kazanılmış immün yetmezliği (AIDS) olan hastalarda bu enfeksiyona karşı hücreli immün yanıtın da önemli olduğu saptanmıştır. Gelişmiş ülkelerde *Campylobacter* türleri ile enfekte hastalarda mikroorganizmanın dışkı ile atılımının ortalama iki veya üç hafta sürdüğü ancak gelişmekte olan ülkelerde atılım süresinin daha kısa olduğu saptanmıştır (Hasçelik G, 2008; Yazıcı V, 2008; Başustaoğlu A., 2010).

2.8. Epidemiyoloji

C. jejuni insanlara fekal oral yol ile bulaşmaktadır. Etkenin insanlara bulaşmasında kontamine hayvansal gıdalar her ne kadar önemli kaynak gösterilirse de, kedi ve köpek yavrularının evde barındırılması sonucu direkt temasla bulaşmada önem taşımaktadır. *C. jejuni*'nin çevre, gıda ve hayvanlardaki yaşam siklusu resim 2'de gösterilmiştir (Allos B, 2001; Altekruse ve diğ., 2003).



Resim 1: *C. jejuni*'nin çevre, gıda ve hayvanlardaki yaşam siklusu (Altekruse ve diğ., 2003)

Diğer bir bulaşma şekli de çapraz kontaminasyondur. Deneysel çalışmalarda, kontamine etlerin kesilmesi sırasında bıçakların, mutfak tezgahlarının ve ellerin *Campylobacter* ile kontamine olabildiği gösterilmiştir (Olson ve diğ., 2008; Nauta M ve diğ., 2009).

C. jejuni tüm dünyada ve her yaş grubunda ishallerin önemli bir nedenidir. Zoonoz olmasına rağmen aile içinde ve hastanede yatan hastalar arasında fekal oral yolla geçişler gösterilmiştir. Yapılan çalışmalara göre bu yolla gelişen gastroenteritler daha çok sporadik olgular şeklinde ortaya çıkmaktadır. Kanatlı hayvanların vücut sıcaklıklarının, *C. jejuni*'nin optimum üreme sıcaklığı 42°C ile aynı olması nedeniyle bakterinin kanatlı barsaklarına çok kolay adapte olduğu ve doğal flora üyesi gibi yaşamını sürdürdüğü bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda kanatlı etlerinin *Salmonella* ve *Campylobacter jejuni*'nin etken olarak sık görüldüğü gıda kaynaklı enfeksiyonlara yol açtığı saptanmıştır. *Campylobacter* enfeksiyonlarının görülme sıklığı mevsim şartları, beslenme alışkanlıkları, kuş göçleri ve turistik seyahatlerle yakından ilişkili olup Mayıs ve Temmuz ayları arasında artmaktadır. Kanatlı hayvan çiftliklerinde kullanılan alet ve malzemeler, ayrıca çalışan personelin kişisel temizliği de

Campylobacter kontaminasyonunda önemli rol oynamaktadır (Çakmak Ö, 2010; Seyitoğlu Ş ve diğ., 2014).

C. jejuni için en sık görülen hayvan kaynakları; kümes hayvanları, sığır ve koyunlardır. *C. coli* ve *C. hyointestinalis* daha çok domuzdan, *C. upsaliensis* köpek, *C. fetus* ise koyun, deve, kümes hayvanları ve domuzdan izole edilmektedir (Hasçelik G, 2008).

Bu rezervuarlar, insan enfeksiyonlarının kaynağını oluştururlar, enfekte hayvanların atıkları toprak ve su kaynaklarını kirletmektedir. *Campylobacter* enfeksiyonlarına dünyanın her yerinde rastlanmaktadır. Ancak tropikal, sıcak ve nemli iklimlerde, daha sık görülmektedir. Nijerya, Hindistan, Kolombiya, Meksika ve Tanzanya gibi subtropikal ve tropikal ülkelere seyahat edenlerde daha sık *Campylobacter jejuni* enfeksiyonları gelişmektedir. *C. jejuni* enfeksiyonları tüm yaş gruplarında görülmektedir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde en çok 0-5 yaş arası bebekler ve çocuklarda gösterilmiştir (Üstünel E, 1986; Figura N, 1991; Samuel C ve diğ., 2004).

Gelişmiş ülkelerde ise, *C. jejuni* enfeksiyonlarının 1 yaş altı çocuklarda ve 15-29 yaşları arasındaki erişkinlerde daha sık görüldüğü saptanmıştır (Fitzgerald C ve diğ., 2011).

Asemptomatik olgular semptomatik olgulara göre 3-4 kez daha fazla görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, Bangladeş'te 2 yaşın altındaki asemptomatik çocuklarda %39 oranında olduğu saptanmıştır. Aynı oran Orta Afrika ülkelerinden Meksika ve Taylan'dan da bildirilmiştir. Bu tür bölgelerde asemptomatik enfeksiyon şeklinde seyretmesinin nedeni olarak suşun virulansı, konağın duyarlılığı ve erken yaşta kazanılan kuruyucu bağışıklık gösterilmektedir.

Türkiye'de ise, *Campylobacter* enfeksiyonlarının ishallerde % 4,7-10,6 arasında, sağlıklı bireylerde ise % 0-2 arasında olduğu gözlenmiştir (Allos B, 2001; Hasçelik G, 2008).

2.9. Antimikrobiyal ajanlar ve dış ortam koşullarına dayanıklılık

Campylobacter jejuni en iyi üreme sıcaklığı kümes hayvanlarının vücut sıcaklığı olan 42°C'dir. *Campylobacter jejuni* su, dışkı, idrar ve sütte 4°C'de haftalarca, 25°C'de ise yaşamını en fazla birkaç gün sürdürebilmektedir. Bu bakteriler, doğrudan güneş ışınlarına dayanıksız, düşük PH'ya duyarlı olup 2,3'den daha düşük PH'da beş dakikadan uzun süre yaşayamazlar. Kuruluğa ve soğuğa duyarlıdırlar. Yüksek sıcaklığa daha uzun süre dayanabilir ancak 60°C'de beş dakikada ölürlür. Pastörizasyon ile inaktive olurlar. Suların dezenfeksiyonunda kullanılan klor *Campylobacter*'lere karşı etkili olmaktadır (Obiri K ve diğ., 2001; Doyle M ve diğ., 1982).

Campylobacter jejuni suşları, makrolidler (eritromisin, azitromisin, klaritromisin) tetrasikilin, aminoglikozid, kloramfenikol, klindamisin, amoksisilin/klavulanik asite ve imipeneme duyarlıdırlar. Birçok suş penisilin, sefalosporin ve sulfonamidlere dirençlidir. Florokinolonlara karşı direnç yükselmektedir. Son yıllarda *Campylobacter* türlerinde bu ilaçlara karşı giderek artan düzeylerde direnç görülmektedir. *C. jejuni* ve *C. coli*'de yüksek düzey tetrasiklin direnci genellikle plazmidler aracılığı ile taşınan *tet(O)* geni ile ilişkilidir. Bu genin kodladığı ve ribozomda üretilen *tet(O)* proteini tetrasiklin üzerinde inhibitör etki yaratmaktadır. *Campylobacter* suşlarının duyarlılık oranları coğrafi bölgeye göre değişmektedir. *Campylobacter*'lerde kinolonlara direnç DNA giraz A (*gyrA*) mutasyonlarına bağlı olarak düşük düzey, orta düzey veya yüksek düzey siprofloksasin direnci ile yüksek düzey nalidiksik asit direnci olabilir. Topoizomerez mutasyonları da (*parC*) kinolon direncinin diğer bir sebebidir (Bacon ve diğ., 2000; Aarestrup F, 2001; Connell D ve diğ., 2003).

In vitro antimikrobiyel duyarlılığın belirlenmesinde; disk difüzyon, E-testi, agar dilüsyon, broth mikrodilüsyon ve broth makrodilüsyon gibi metotlar kullanılmaktadır. Hangi metod kullanılırsa kullanılsın, kullanılan

testin uluslar arası kabul görmüş bir prosedüre göre yapılmış olması gerekmektedir. Ayrıca referans suşların test edilecek antimikrobiyel ajanın kalite kontrolü için uygun olmalıdır (Yeliz Y, 2010).

T.C Sağlık Bakanlığı'nın 2015 yılında yayınlamış olduğu EUCAST kriterlerine göre *Campylobacter jejuni* ve *coli* için klinik sınır değerler Tablo 2'de verilmiştir (T.C Sağlık bakanlığı, 2015).

Tablo 2: *Campylobacter jejuni* ve *coli* için EUCAST Klinik Sınır Değerler (T.C Sağlık bakanlığı, 2015)

	Mik sınır değeri Mg/L		Disk içeriği µg	Zon çapı sınır değeri (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
Florokinolonlar	0.5	0.5	5	26	26
Siprofloksasin					
Makrolidler					
Azitromisin	-	-		-	-
Klaritromisin	-	-		-	-
Eritromisin,	4	4	15	20	20
Tetrasiklinler					
Doksisiklin	-	-		-	-
Tetrasiklin	2	2	30	30	30

2.10. Tanı

2.10.1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması

2.10.1.1. Dışkı ve rektal sürüntü örnekleri

Örnekler, akut dönemde ve antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınmalıdır. En az 4-5 g (sulu ise 4-5 mL) taze dışkı örneği alınmalı, idrar ile kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Örnekler steril veya temiz plastik, geniş, ağızlı, vida kapaklı ve sızdırmaz kaplarda laboratuvara ulaştırılmalıdır. Dışkı örneği bir saat içinde incelenmeyecekse veya laboratuvara gönderilemeyecekse bir eküvyon yardımıyla modifiye Cary-Blair (agar oranı % 0,16) veya kömürlü Amies besiyeri gibi bir taşıma besiyeri içinde gönderilmelidir. *Campylobacter* izolasyon şansını artırmak

için örneğin laboratuvara ulaşması gecikmişse hastadan ikinci bir örneğin alınması gerekebilir. İzole edilen *C. jejuni* izolatlarını saklamak için tercih edilen yöntem % 15 gliserol içeren besiyerleridir (Jerris C ve diğ., 2007; Gorman R, 2004).

Rektal sürüntü için aynı hastadan en az 2 sürüntü şeklinde alınmalıdır. Örnek alındıktan sonra laboratuvara ulaşması bir saatten uzun sürecek ise eküvyonlar (agar oranı 0,16) taşıma ortamına konmalıdır. Ayrıca spesifik ön zenginleştirici bir taşıma besiyeri de kullanılabilir. Dışkı ve rektal sürüntü örnekleri 48 saatten az bekletilecekse +4 °C'de, 48 saatten fazla bekletilecekse -70 °C'de muhafaza edilmelidir (Gorman R 2004; Fitzgerald C ve diğ., 2011).

2.10.1.2. Kan

Aseptik koşullarda alınmış venöz kan örnekleri sürekli monitörize kan kültür şişeleri içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır.

2.10.2. Mikroskopik inceleme

Dışkı örneği ilk iki saat içinde, karanlık alan mikroskobu veya faz-kontrast mikroskobunda incelenir. Bu incelemede *Campylobacter* cinsi tirbuşon tarzındaki tipik hareketlerinin görülmesi tanıya yardım etmektedir. Direkt mikroskopi dışkı örneğinde lökosit ve eritrosit varlığının saptanması açısından önemlidir. Ancak dışkıda lökosit saptanmaması *Campylobacter* enfeksiyonu olasılığını dışlamaz (Fitzgerald ve diğ., 2007).

2.10.3. Kültür

Campylobacter türlerinin üremeleri için özel besiyeri, uygun ısı ve mikroaerofilik ortam gerektiğinden Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında izolasyonu zordur. Kültür için kullanılan Skirrow, Butzler ve Campy-BAP gibi antibiyotikli kanlı besiyerleri tablo 3'te verilmiştir. Ekim sonrası plaklar % 5 O₂, % 10 CO₂ ve % 85 N₂ içeren mikroaerofilik gaz karışımı sağlayan ve ticari olarak temin edilebilen Campy Pak (BBL No: 271034) veya Campy Gen (Oxoid 0025A) kullanılarak anaerobik kavanoz içinde 42°C'de

inkübe edilerek 24-48 saat inkübasyon sonunda 0,3-0,5 mm çapında su damlası gibi nemli, gri/beyaz ve hemoliz yapmayan tipik kolonileri oluşturmaktadırlar (Fitzgerald C, 2011; Polat E, 2008).

Tablo 3: *Campylobacter jejuni* izolasyonu için seçici besiyerlerinin formülleri (Polat E, 2008)

BESİYERİNİN ADI	TEMEL BESİYERİ	KATKI MADDELERİ
Butzler'in selektif besiyeri	Sıvı thioglikolat besiyeri (Difco)	Agar (% 3) Koyun kanı (% 10) Basitrasin (2500 IU/lt) Novobiosin (5 mg/lt) Kolistin (10.000 IU/lt) Sefalotin (15 mg/lt) Aktidion (50 mg/lt)
Blaser'in besiyeri (Campy-BAP)	Brucella agar base	Koyun kanı (% 10) Vankomisin (10 mg/lt) Trimethoprim (5 mg/lt) Polimiksin B (2,500 IU/lt) Sefalotin (15 mg/lt) Amfoterisin B (2 mg/lt)
Skirrow'un kanlı agar besiyeri	Blood agar base (temel kanlı agar)	Koyun kanı (% 5) Vankomisin (5 mg/lt) Polimiksin B (1250 IU/lt) Trimethoprim (2,5 mg/lt)
Butzler virion besiyeri	Columbia agar base (Oxoid CM331)	Defibrine koyun kanı Sefoperazon (15mg/lt) Rifampin (10 mg/lt) Kolistin (10.000 IU/lt) Ampoterisin B (2 mg/lt)
Preston	Nutrien buyyon (Oxoid CM 67)	Trimethoprim(10 µg/ml) Polimiksin B (5 IU/ml) Rifampin (10 µg/ml) Sikloheksimid (100 µg/ml)
Şarkoal (charcoal)-Bazlı selektif besiyeri	Columbia agar base (GIBCO)	Hematin (0,032 g/lt) Sodyum piruvat (0.1 g/lt) Vankomisin (20 mg/lt) Sefaperazon (32 mg/lt) Sikloheksimid (100 mg/lt)

2.10.4. İdentifikasyon

İdentifikasyonda ilk adım oluşan kolonilerden Gram boyama yapılmasıdır. Mikroaerofilik koşullarda 42°C'de seçici besiyerinde oluşan kolonilerden oksidaz pozitif, katalaz pozitif ve gram negatif kıvrık martı kanadı görünümündeki çomakçıklar *Campylobacter* türleri olarak bildirilmektedir. Bu bakteriler ortamda bulunan H₂O₂'yi oksijen ve suya dönüştürme yeteneğine sahiptirler. Sitokrom oksidaz aktivitesini

saptamada ise, kullanılan oksidaz testinde p-fenilen diamin dihidroklorid gibi renksiz bir boya enzim için, yapay bir elektron alıcısı olarak boya okside edilir ve koyu mor bir bileşik olan indofenol mavisi oluşur (T.C Sağlık bakanlığı, 2015).

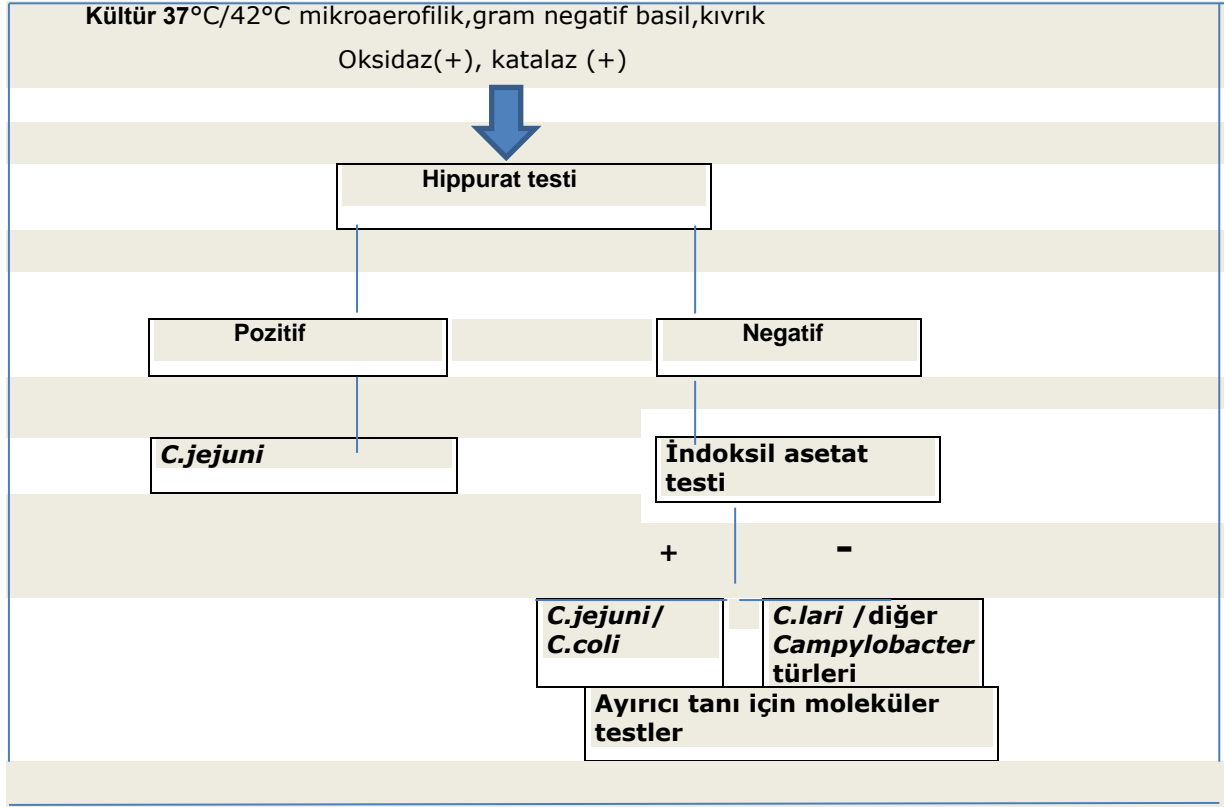
C. jejuni suşlarını diğer *Campylobacter* türlerinden ayırt etmek için hippurat hidroliz testi önerilmektedir. Bakterilerin hippuratu hidroliz edebilme yeteneklerini araştırmada sodyum hippuratin % 5'lik solüsyonu kullanılmaktadır. *C. jejuni* hippurikaz enzimine sahip olduğu için sodyum hippuratu benzoik asit ve glisine ayrıştırma yeteneğine sahiptir. Ortamda indikatör olarak ninhidrin ilave edildiğinde glisin ile verdiği reaksiyonun gözlenmesine dayanmaktadır. Eğer hippurat testi pozitif ise tablo 4 ve şekil 2'de olduğu gibi *C. jejuni* olarak raporlanmaktadır. Ancak yapılan bazı çalışmalarda hippurat testi negatif olan *C. jejuni* suşlarının olduğu bildirilmiştir (Rautelin H, 1999; Seytinoğlu Ş, 2014).

Tablo 4: Termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu (POLAT E, 2008)

	<i>C.jejuni</i>		<i>C. coli</i>	<i>C.lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
	Subs.jejuni	Subs.doylei			
Hippurat hidroliz	+	+	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	-/Z
Nitrate redüksiyon	+		+	+	+
TSI agarda H ₂ S	-	-	-/Z	-	-
Nalidiksik asit direnci	S	S	S	R	S
Sefalotin direnci	R	D	R	R	S

Z: zayıf reaksiyon D: değişken ; S: duyarlı ; R: dirençli

Tablo 5: *Campylobacter* tür ayrımı için akış şeması (TC Sağlık Bakanlığı, 2015)



2.10.5. Serolojik Testler

C. jejuni ve *C. coli*'nin ortak yüzey antijenlerini doğrudan dışkı örneklerinde saptayan çeşitli ticari ELISA ve lateks aglütinasyon temelli testler mevcuttur. ELISA testinde *Campylobacter* cinsinin iki yüzey antijenine karşı geliştirilmiş poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Meritec-Campy testi kültürde izole edilen kolonileri tanımlayabilmek için kullanılan, lateks aglütinasyon testidir. *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* tanısında kullanılır. Bu testte latex partikülleri ile flagellar antijene karşı geliştirilmiş antikorlar kullanılmaktadır. Campyslide testinde ise, *Campylobacter* türlerinin hücre duvar antijenlerine karşı üretilmiş anti-*Campylobacter* antikorları ile kaplı lateks partikülleri kullanılmaktadır. Bu test *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. fetus* türlerinin tanımlamasında kullanılmaktadır (Erdem B., 1999).

Campylobacter enteritine yanıt olarak serumda immünglobülinlerden özellikle IgA ve IgM semptomların başlamasından hemen sonra artar ve iki

hafta sonrada hızla düşmeye başlar. Bu antikorlar ELISA ve aglütinasyon ile gösterilebilmektedir. Akut enfeksiyonu takiben hastaların immün globulin düzeyleri ELISA ile araştırıldığında hastaların sadece % 60'ında anlamlı bir artış gözleendiği bildirilmiştir. Ayrıca hastalarda akut enfeksiyon geçtikten sonra antikor seviyesinin eski seviyesine dönmediği ve hastaların % 9'unda 20 ay geçtiği halde antikor titre yüksekliğinin devam ettiği gözlenmiştir. Günümüzde serolojik yöntemler hastalığın tanısından çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır (Hodinka ve diğ., 1988; Erdem B., 1999; Taylor B., 2004).

2.10.6. Moleküler Yöntemler

Campylobacter türlerinin biyokimyasal ve serolojik olarak ayırt edilmesi oldukça zor ve zaman alıcıdır. Bu ayırım çoğunlukla *C.jejuni*'nin Na-hippuratı hidroliz etmesi esasına dayanır ki, bu da her zaman doğru sonuç vermemektedir. Türlerin ayırt edilebilmesini kolaylaştırmak için son yıllarda dışkı örneklerinde *Campylobacter* DNA'sını saptayan ve tür düzeyinde identifikasyon yapabilen in-house, multipleks ve real time özellikte PCR yöntemleri geliştirilmiştir. DNA bazlı çalışmalarda *ceuE*, *16S* rRNA, *23S* rRNA, *glyA*, *flagellin*, *lipidA*, *tuf*, hipurikaz ve aspartokinaz genleri gibi çok sayıda gen araştırılmıştır. Bu yöntemler kültür yöntemiyle gözden kaçırılabilen *Campylobacter* türlerinin saptanmasına olanak sağlamaktadır (Maridor ML, 2011; Shiramaru S, 2012).

2.11. Tedavi

Campylobacter enteritlerinde diğ er ishallerde olduğu gibi sıvı ve elektrolit kayıplarının yerine konması, tedavide ilk adımdır. Çünkü, ishalin tedavisinde hedef kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin yerine konmasıdır. Bu şekilde spesifik antimikrobiyal tedavi gerektirmeden olguların % 30-100'ü kendiliğinden iyileşmektedir. Birçok hasta için sıvı elektrolitlerin yerine konması ishal tedavisi için yeterlidir. Ancak son yıllarda yapılan kontrollü çalışmalarda, yüksek ateş, kanlı ishal ve dışkılama sayısı günde 10'un üzerinde olan bir haftadan uzun süren ishallerde antibiyotik tedavisi

gerekmektedir. Ayrıca sistemik enfeksiyon gelişmesi durumunda, bulaş riski yüksek kapalı toplumlarda ve immün sistemi baskılanmış hastalarda da antibiyotik uygulanması önerilmektedir. *Campylobacter* enteritlerinde etkinliği, düşük toksisitesi ve ucuz olması nedeniyle eritromisin ilk seçilecek ilaçtır. İkinci seçilecek ilacın siprofloksasin olduğu bildirilmekle birlikte, kinolonlara direç artmaktadır. Bunun yanında tetrasiklin, klindamisin, kloramfenikol, çocuklarda amoksisilin veya tetrasikilin/klavulanik asit tedavide kullanılan diğer antimikrobiyal ajanlardır. (Hasçelik G, 2008; Yazıcı V, 2008; Murray PR, 2010).

2.12. Korunma ve Kontrol

İnsanların enfeksiyona yakalanma riskini azaltmak için, gıda ürünlerinin kontrolü gerekmektedir. Gerek kanatlılarda gerekse insanlarda gereksiz antibiyotik kullanımından kaçınılması, suların klorlanması ve sütün pastörizasyonu önerilmektedir. *Campylobacter* enfeksiyonlarının zoonotik özelliği nedeniyle hayvanlar ile temastan sonra eller yıkanmalı ve kurutulmalıdır. Çünkü, bireysel olarak yapılabilecek en önemli korunma yöntemi el yıkamadır. Bu enfeksiyonlara maruz kalmamak için pastörize edilmemiş gıdalardan kaçınmak ve güvenlik önlemleri alınmış su kaynaklarından yararlanmak gerekmektedir. Enfeksiyonun gelişmesini önlemek için antimikrobiyal kullanımı önerilmemektedir (Allos M, 2004; Murray R, 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Üsküdar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 04.02.2015 tarihinde ve 2015/004 sayılı onayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülmüştür.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına, bakteriyolojik kültür ve parazitolojik inceleme için, gönderilen ishalleri dışkı örneklerinde *C. jejuni* varlığını geleneksel kültür ve Real-Time PCR yöntemleri ile saptamayı 6 aylık bir periyotta amaçlayan bu çalışmada örnekler temiz plastik, geniş, ağızlı, kapaklı ve sızdırmaz kaplar içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvara gelen dışkının önce makroskopik özellikleri (kan, mukus varlığı ve sulu gibi) belirlendi. İshalleri olan dışkıların kanlı veya mukuslu bölgelerinden örnek alınarak Skirrow besiyerine tek koloni ekimleri yapıldı. Dışkı örnekleri moleküler çalışma yapılana kadar -70°C'de saklandı.

3.1. *Campylobacter jejuni* izolasyonu

Ticari olarak temin edilen Skirrow (Biolife BL1068) (% 5 koyun kanı, 5 mg/lt vankomisin, 1250 IU/lt polimiksin B, 2,5 mg/lt trimetoprim ilaveli) besiyeri kullanıldı. İshalleri dışkı örneğinden bir pastör pipeti yardımı ile Skirrow kanlı besiyerine 2 damla damlatılıp steril öze yardımı ile besiyeri yüzeyine tek koloni ekimleri şeklinde ekildi. Her örnekten Skirrow besiyerine çift ekim gerçekleştirildi. Plaklar % 5 O₂, % 10 CO₂ ve % 85 N₂'den oluşan mikroaerofilik atmosferde ve iki farklı ısıda (42°C-35°C) inkübe edildi. Ekim yapılan plaklarının tamamı, 48 saatlik inkübasyonun ardından *Campylobacter* üremesi yönünden değerlendirildi. Skirrow besiyerinde oluşan 0,3-0,5 mm çaplı gri, şeffaf ve hemoliz yapmayan koloniler Gram boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda X1000 büyütmede mikroskopik morfolojileri yönünden değerlendirildi (Resim 2).



Resim 2: *Campylobacter* kolonileri (Skirrow besiyerinde üreyen saydam, su damlası görünümünde koloniler)

3.1.1. *Campylobacter* selektif agar besiyeri (Skirrow) içeriği ve hazırlanması

İçerik: pepton 10 g/L, tripton 3 g/L, sodyum klorür 5 g/L, kömür 4 g/L, sodyum deoksikolat 1 g/L, sodyum piruvat 0,25 g/L, demir sülfat 0,25 g/L, agar 15 g/L şeklindedir. Dehidre hazır besiyeri 40 g/L konsantrasyonda olacak şekilde 500 ml distile suda eritilerek 120°C'de 15 dakika sterilize edilmiş besiyerinin ısı 50°C'ye gelince %5 oranında defibrine koyun kanı ile vankomisin 5 mg, polimiksin B 1250 IU, trimethoprim 2,5 mg ve 1 vial *Campylobacter* Selective Supplement (Merck 1.02249) ilave edilmiştir.

3.2. *Campylobacter jejuni* identifikasyonu

Skirrow besiyerinde oluşan saydam, su damlası görünümündeki kolonilerden Gram boyası yapıldı. Işık mikroskopunda gram negatif, spiral veya martı kanadı şeklinde görünüm veren kolonilerden *C. jejuni* ön tanısı ile ileri identifikasyon çalışmaları için Skirrow selektif besiyerine saf koloni pasajı yapıldı. Pasaj yapılan plaklarının tamamı, 48 saatlik inkübasyonun ardından üreyen saf kolonilerden; katalaz, oksidaz ve hippurat hidroliz testleri yapılarak değerlendirildi.

3.2.1. Katalaz testi

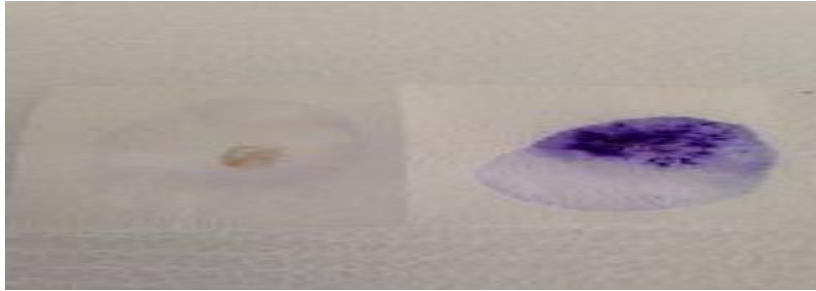
Taze kolonilerden bir öze dolusu alınarak lam üzerinde bir damla % 3'lük H₂O₂ (peroksit reagenti) içinde süspansiyon edildi. Gaz kabarcıklarının oluşması pozitif reaksiyon olarak kabul edildi (Şekil 3).



Resim 3: Katalaz testi

3.2.2. Oksidaz testi

Taze kolonilerden bir öze dolusu alınarak kağıt şerit üzerine yayıldı. Üzerine bir damla oksidaz reagenti (Tetramethyl-p-phenylene diamine dihydrochloride) damlatılarak 5-15 saniye içinde mor rengin oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Şekil4).



Resim 4: Oksidaz testi

3.2.3. Hızlı hippurat hidroliz testi

Hippurat hidroliz testini yapmak için içerisinde 0,4 ml % 1'lik hippurat solüsyonu bulunan tüplere Skirrow besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden bir öze dolusu alınarak 35°C'de 2 saat süreyle sıcak su banyosunda tutuldu. Bu süre sonunda % 3,5'lük ninhidrin çözeltisinden 0,2 ml her bir tüpe ilave edilerek 35°C'deki sıcak su banyosunda 5 dakika

daha bekletildi. Tüpte oluşan koyu mavi, mor renk pozitif, açık sarı pembe ya da renk değişikliği olmaması negatif olarak değerlendirildi (Resim 5). Tüm incelemeler sonunda seçici besiyerinde mikroaerofil atmosferde üreyen termofilik özellikteki, oksidaz ve katalaz aktivitesine sahip hippürat hidrolizi pozitif olanlar *C. jejuni* olarak tanımlandı.



Resim 5: Hippurat Hidroliz testi

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Çalışmamızda, kültürden izole edilen *Campylobacter jejuni* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışıldı. Temin edilen % 5 Defibrine koyun kanı ilave edilmiş Mueller Hinton agar (Oxoid, İngiltere) hazırlandı. β -Nikotinamid adenin dinükleotid (β -NAD) steril deiyonize su içerisinde konsantrasyonu 20 mg/L olacak şekilde çözüldü. Çözelti 0,2 μ m membran filtreden geçirilerek steril edilip Mueller Hinton agara ilave edildi. Besiyeri 90 mm.lik steril petri kaplarına 25'er ml. olarak şekilde dağıtıldı. Skirrow besiyeri üzerinde üreyen kolonilerden 0,5 McFarland bulanıklıkta saf bakteri süspansiyonları hazırlandı. Bakteri süspansiyonu hazırlanan Mueller Hinton besiyeri üzerine steril eküvyon ile yayıldı. Agar yüzeyine siprofloksasin (5 μ g), eritromisin (15 μ g), azitromisin (5 μ g), tetrasiklin (30 μ g) ve klindamisin (15 μ g) diskleri yerleştirilip 42°C'de 48 saat mikroaerofilik ortamda inkübe edildi. Oluşan inhibisyon zon çapları, *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 kalite kontrol suşu olarak EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi (Tablo 6).

Tablo 6: *Campylobacter jejuni* için EUCAST Klinik Sınır Değerler (T.C Sağlık bakanlığı, 2015)

Zon çapı sınır değeri (mm)		
	S	R
Azitromisin	≤20	>20
Eritromisin	≤20	>20
Tetrasiklin	≤30	>30
Siprofloksasin	≤26	>26
Klindamisin	≤20	>20

3.4. Moleküler Tanı

Bu çalışmada; -70°C'de saklanan dışkı örnekleri Real-Time PCR temelli BD MAX™ Enterik Bacterial Panel kiti kullanarak değerlendirildi (Resim 6).



Resim 6: BD MAX™ Enterik Bacterial Panel

3.4.1. BD MAX sistemi içeriği ve kullanılan ekipmanlar

- TaqMan spesifik moleküler prob ve primerlerle birlikte örnek işleme kontrolüne spesifik TaqMan probu ve primerleri içeren yeşil folyo master mix tüpleri.
- DNA ekstraksiyonu için gerekli tüm sıvı reaktifler ve tek kullanımlık pipet uçlarını içeren ünitelendirilmiş reaktif stripleri.

- BD MAX Enteric Bacterial Panel beyaz folyo olan ekstraksiyon tüpleri.
- BD MAX Enteric Bacterial Panel sample buffer tüpleri
- Septum kapağı
- BD MAX PCR Cartridges
- VWR Çoklu Tüp Vorteks Karıştırıcı
- Vortex Genie 2
- Nalgene kriyojenik flakon tutucu
- Tek kullanımlık 10 µL inokülasyon özeleri
- Laboratuar önlüğü ve pudrasız tek kullanımlık eldivenler

3.4.2. Moleküler testin yapılışı

Moleküler çalışmamızda, 10 µL tek kullanımlık öze dolusu dışkı örneği alındı ve sample buffer tüpüne aktarılarak septum kapağı ile sample buffer tüpü kapatıldı. Tüm hazırlanmış örnekler aynı anda çoklu tüp vorteks karıştırıcı ile bir dakika boyunca maksimum hızda vortekslenerek BD MAX sistem rakına aktarıldı. Ekstraksiyon, master mix tüpleri takılarak sistemin çalışma bölümüne örnekler yerleştirildi. Bu sistemde *C. jejuni/coli tuf* gen amplifikasyonu için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve DNA'nın saptanması için florojenik sekansa özgü hibridizasyon problemleri kullanıldı. BD MAX sistemin prosedürü ve test sonuçları yaklaşık 2,30 saatte gerçekleştirildi. Sonuçlar sinyallerin amplifikasyonu, saptanması BD MAX sistemi tarafından otomatik olarak raporlandı (Tablo 7). Elde edilen sonuçlar pozitif kontrol suşu olarak *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 ile karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı.

Tablo 7 A, B ve C: RT-PCR Enterik Bacterial Panel (BD MAX™) ile değerlendirme ve analizler

(A)

Run 18: 20/08/2015

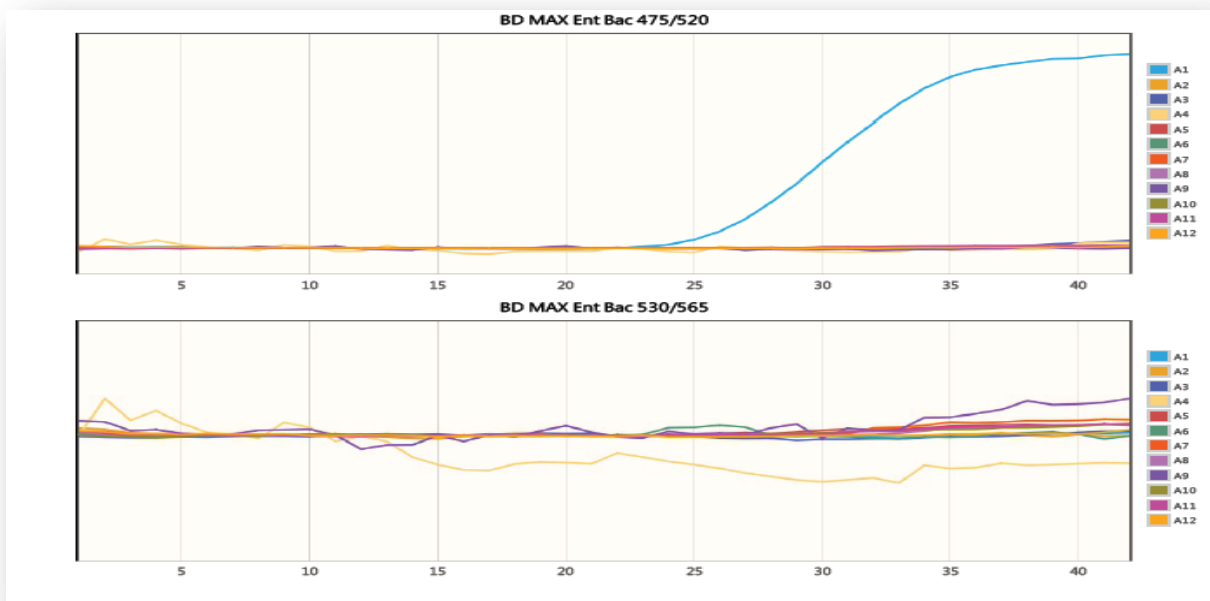
Position SP Status Lot Number	Test Name	Sample Tube PCR Status	Patient ID Accession	Result
A1 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611CY12 Success	-- 4435773	Shig NEG STX NEG Campy POS Salm NEG
A2 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611DR46 Success	-- 4446717	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A3 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611BR26 Success	-- 4438626	Shig POS STX NEG Campy NEG Salm NEG
A4 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611DT77 Success	-- 4435602	Shig POS STX UNR Campy UNR Salm UNR
A5 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611DU23 Success	-- 4447410	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A6 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611CR89 Success	-- 4444123	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A7 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611BP03 Success	-- 4443481	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A8 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611CS75 Success	-- 4441511	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A9 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611DV59 Success	-- 4436248	Shig UNR STX UNR Campy UNR Salm UNR
A10 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611DT50 Success	-- 4443273	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A11 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611CM17 Success	-- 4434126	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG
A12 Success --	BD MAX Ent Bac	B10433557420160611BV30 Success	-- 4446714	Shig NEG STX NEG Campy NEG Salm NEG

Printed: 2015-11-01 08:25:04
Page: 1/4

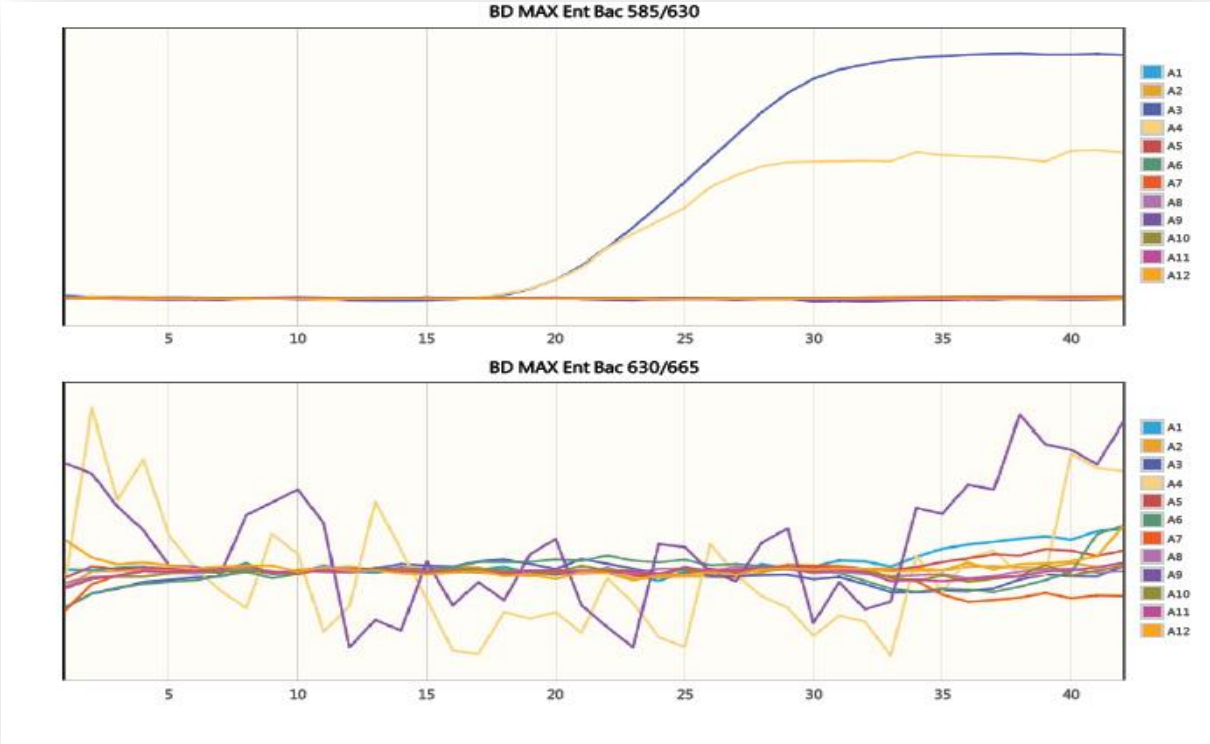
BD

BD MAX System cleared or approved by FDA only when used with BD MAX IVD assays which have been cleared or approved by FDA.

(B)



(C)



3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde; IBM SPSS 21,0 (Statistical Package for Social Scienses), Minitab 16 paket programı kullanılmıştır. Kategorik yapıdaki verilere Ki'kare testleri (Fisher's exact test) uygulanmış, gözeler arasındaki oransal farklılıklar Two proportions Z Testi ile test edilerek veriler sayı ve yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı Kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu tarafından desteklenen 11a214 nolu bu çalışma, 2015 yılı Nisan-Kasım ayları arasında gerçekleştirildi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına Tıp Fakültesi Hastanesinin çeşitli kliniklerinden bakteriyolojik kültür ve parazitolojik inceleme için, gönderilen ishalleri dışkı örneklerinde *C. jejuni* varlığını kültür ve Real-Time PCR yöntemleri ile saptamayı amaçlayan bu çalışmada, 300 dışkı örneği çalışıldı. Dışkı örneklerinin 144'ünün (% 48) kadın; 156'sının (% 52) ise, erkek hastalara ait olduğu belirlendi (Tablo 8). Dışkı örneklerinin 130'u (% 43) kültür, 170'i (% 57) ise, parazitolojik inceleme amaçlı gönderilmiştir.

Tablo 8: Cinsiyete göre üreme saptanan örnek sayısı

Cinsiyet	Toplam	Üreme sayısı	Yüzdeler	P- değeri
Kadın	144	2	1,4	P=0,609
Erkek	156	1	0,6	
Toplam	300	3	1	

Fisher Exact Test

Campylobacter jejuni varlığı saptanan örnek sayısında; cinsiyete göre anlamlı bir fark saptanmamıştır (P=0,609).

Çalışma kapsamında hastaların 102'si (0-4), 45'i (5-9), 13'ü (10-14), 47'si (15-19), 59'u (20-24), 21'i (25-29) ve 13'ü ≥ 30 yaş ve üzeri yaş dağılımı göstermekteydi. *C. jejuni* varlığı araştırılan ishalleri dışkıların yaklaşık yarısının 18 yaş altındaki hastalara ait olduğu belirlendi. *Campylobacter jejuni* 3 ay-4 yıl yaş grubunda çalışılan 102 (% 34) örnekte 3'ünde (% 3) saptanırken, diğer yaş gruplarına ait olan 198 (% 66) ishalleri dışkı örneğinde üreme saptanmadı. *C. jejuni* varlığı saptanan ishalleri dışkıların hepsinin (3 ay-4 yaş) pediatrik popülasyondaki hastalara ait olduğu Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9: Yaş gruplarına göre kültür yapılan ve üreme saptanan örnek sayısı

Kültür	0-4 yaş (3 ay-4 yaş)	5-9 yaş	10-14 yaş	15-19 yaş	20-24 yaş	25-29 yaş	≥30	Toplam	P-değeri
Üreme saptanan örnek sayısı	3	0	0	0	0	0	0	3	P= 0,463
Çalışılan örnek sayısı	102	45	13	47	59	21	13	300	
%	3	0	0	0	0	0	0	1	

Fisher Exact Test

Kültür yöntemiyle *Campylobacter jejuni* varlığı saptanan örnek sayısında; yaşlara göre anlamlı bir fark saptanmamıştır (P=0,463).

Parazitolojik inceleme için, gelen örneklerin 1'inde rutin kültür amacıyla gönderilen örneklerin ise 2'sinde üreme saptandı. Çalışmamızda, toplam 300 ishelli dışkı örneğinin makroskopik olarak değerlendirilmesinde ise; 48'i (% 16) kanlı mukuslu ve 252'si (% 84) sulu idi. *C. jejuni* varlığı saptanan 3 ishelli dışkının ise 1'i kanlı mukuslu, 2'si sulu olarak tespit edildi (Tablo 10).

Tablo 10: *C.jejuni* varlığı saptanan ishelli dışkıların makroskopik incelenmesine göre hastaların yaş dağılımı (n=300)

Yaş	İzole sayısı	Makroskopik inceleme
3 ay	1	Sulu
2 yıl	1	Sulu
4 yıl	1	Kanlı mukuslu

Kalite kontrol suşu olarak *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 suşunun kullanıldığı disk difüzyon antimikrobiyal duyarlılık testlerinde izole edilen 3 suşun hepsi eritromisin, azitromisin, tetrasiklin ve klindamisine duyarlı iken, tümü siprofloksasine dirençli bulundu. Sonuçlar Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11: *Campylobacter jejuni* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları (n=3)

Suş no	Eritromisin	Azitromisin	Tetrasiklin	Klindamisin	Siprofloksasin
1	S	S	S	S	R
2	S	S	S	S	R
3	S	S	S	S	R

Kültürde *C. jejuni* varlığı saptanan 3 örnekte de moleküler test sonucu pozitif bulundu. Ancak, kültürde üreme saptanmayan 2 örnekte de moleküler yöntemle *C. jejuni/coli* varlığı saptandı. Bu örneklerden 1'i erişkin (25-29) yaş grubunda, diğeri ise pediatrik (5-9) yaş grubunda yer alan hastalara aitti. Böylece Real-Time PCR yöntemiyle toplam çalışılan 300 ishali dışkı örneğinin 5'inde (% 2) pozitiflik saptandı. Sonuçlar Tablo 12 ve 13' te verilmiştir.

Tablo 12: Yaş gruplarına göre Real-Time PCR çalışılan ve pozitiflik saptanan örnek sayısı

RT-PCR	0-4 yaş (3 ay-4 yaş)	5-9 yaş	10-14 yaş	15-19 yaş	20-24 yaş	25-29 yaş	≥30	Toplam	P-değeri
Pozitif saptanan örnek sayısı	3	1	0	0	0	1	0	5	P=0,584
Çalışılan örnek sayısı	102	45	13	47	59	21	13	300	
%	3	2	0	0	0	5	0	1,6	

Fisher Exact Test

Real-Time PCR yöntemiyle *Campylobacter jejuni/coli* pozitifliği saptanan örnek sayısında; yaşlara göre anlamlı bir fark saptanmamıştır (P=0,584).

Tablo 13: Kültür ve moleküler yöntemle saptanan *C. jejuni* pozitifliği (n=300)

	Kültür pozitif	Kültür negatif	Toplam	P-değeri
Real-Time PCR pozitif	3	2	5	P=0,476
Real-Time PCR negatif	–	295	295	
Toplam	3	297	300	

Two proportions Z Testi

Real- Time PCR yöntemi ile elde edilen sonuçlar, kültür yöntemi ile elde edilen sonuçlar arasında yapılan analizde anlamlı bir fark saptanmamıştır (P=0,476).

Moleküler yöntemle *C. jejuni/coli* varlığı saptanan 2 örneğin 1'i bakteriyolojik kültür, diğeri ise parazitolojik inceleme için, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilmiştir. Her iki örnekte de üreme veya parazit tespit edilmemiştir. Bu örneklerin makroskopik olarak değerlendirilmesinde ise; 2 örneğin de sulu olduğu tespit edilmiştir (Tablo 14).

Tablo 14: Moleküler testlerle *C. jejuni/coli* varlığı saptanan ishallerin makroskopik incelenmesine göre hastaların yaş dağılımı (n=300)

Yaş (Yıl)	Pozitiflik	Makroskopik inceleme
5	1	Sulu
27	1	Sulu

Çalışmamızda, kültür yöntemiyle *Campylobacter jejuni* suşlarının 3'ü kadından izole edilirken, moleküler testlerle pozitiflik saptanan dışkı örneklerinin 1'i kadın, diğeri ise erkek hastaya ait olduğu belirlendi.

Hem kültür hem de moleküler testlerle *C. jejuni* pozitiflikleri Mayıs - Ağustos aylarında gelen ishallerin dışkı örneklerinde saptandı.

Çalışma kapsamında Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen hem kültür hem de moleküler testlerle toplam 300 ishali dışkı örneğinin 295'inde (% 98) *C. jejuni/coli* saptanmadı.

Real-Time BD MAX Enteric Bacterial Panel ile *C. jejuni/coli* dışında Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen ishali dışkı örneklerinin 7'sinde (% 2,33) *Salmonella spp.*, 4'ünde (% 1,33) *Shigella spp./* Enteroinvazif *E. coli* ve 4 (% 1,33) örnekte de Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) varlığı tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15: Moleküler test ve kültür ile saptanan enterik patojenlerin sayı ve yüzdeleri (n=300)

Etken	Aranan genler	Real- time PCR	Kültür	P-değeri
<i>C.jejuni/coli.</i>	<i>tuf</i>	5 (% 2)	3 (%1)	P=0,476
<i>Salmonella spp.</i>	<i>SpaO</i>	7 (% 2,33)	1 (% 0,33)	P=0,032
<i>Shigella spp./</i> Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	<i>ipaH</i>	4 (% 1,33)	-	P=0,124
Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	<i>stx1 & stx2</i>	4 (% 1,33)	-	P=0,124

Two proportions Z Testi

Kayıtlara baktığımızda *C.jejuni/ coli* dışında Real-Time PCR tekniği ile *Salmonella* varlığı saptanan 7 ishali dışkı örneğinin, 3'ü bakteriyolojik kültür amaçlı gönderilmiş ve 1'inde üreme saptanmıştır. Yapılan analizde, sonuçlar anlamlı olarak önemli düzeyde farklı saptanmıştır (P=0,032).

Parazitolojik inceleme amaçlı gönderilen diğer 4 ishali dışkı örneğinde ise, parazit saptanmamıştır.

Real-Time PCR tekniği ile *Shigella spp./*Enteroinvazif *E. coli* varlığı saptanan 4 ishali dışkı örneğinin tümü, parazitolojik inceleme amaçlı gönderilmiş ve hiç birinde parazit saptanmamıştır.

Real-Time PCR yöntemiyle EHEC varlığı saptanan 4 ishali dışkı örneğinin 1'i bakteriyolojik kültür amaçlı, 3'ü ise parazitolojik inceleme amaçlı gönderilmiş ve hiçbirinde üreme veya parazit tespit edilmemiştir.

İncelenen rapor ve kayıtlara göre çalışmamızın kapsamındaki süre içerisinde; bizde *C. jejuni* saptanmayan, ancak bakteriyolojik kültür amaçlı gönderilen ishalleri dışkı örneklerinin 1'inde Vankomisin Dirençli *Enterokok* (VRE) saptanmıştır.

Parazitolojik inceleme amaçlı gönderilen dışkı örneklerinin ise, 9'sunda *Blastocystis hominis* ve 11'inde amip kistleri görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Campylobacter cinsi bakteriler tüm dünyada besin kaynaklı gastroenteritlerin en sık nedenlerinden biridir. Dünya genelinde *Campylobacter* enfeksiyonlarının büyük bir kısmından *C. jejuni* sorumludur ve bunu diğer bir termotoleran tür olan *C. coli* takip etmektedir (European Food Safety Authority, 2012). ABD’de yılda 1,3 milyon, Avrupa’da ise 190.000 *C. jejuni* enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir.

Hamidian ve ark. İran’da yaptıkları çalışmada, ishaller hastaların (% 8,7) 49/562’sinden *Campylobacter spp.* izole edilmiş; bunların 34 (% 6)’sı *C. jejuni* olarak tanımlanmıştır (Hamidian M, 2011). Niederer ve ark. İsviçre’de yaptıkları çalışmada *Campylobacter* izolasyon sıklığı % 8,2 (467/5695) olarak bildirilmiş ve izolatların yaklaşık % 90’ının *C.jejuni* olduğu bildirmişlerdir (Niederer L ve diğ., 2012).

Campylobacter jejuni enfeksiyonları; hijyenik koşulların bozuk olduğu ülkelerde, kötü yaşam koşulları, sağlıksız yiyecek ve içeceklerin kullanılması etken mikroorganizmaların en önemli giriş yolu olan fekal-oral yolla bulaşmaktadır. Özellikle Bangladeş, Hindistan ve Pakistan gibi yoksul Asya ülkelerinde çocuklarda gelişen ishallerin de önemli bir nedenidir. (Pickering K ve diğ., 2012; Oryan ve diğ., 2015).

Türkiye’de *Campylobacter* enfeksiyonlarının görülme sıklığı ile ilgili 1986-2002 yılları arasında yapılan çalışmalarda, *Campylobacter* türlerinin izolasyon sıklığının % 1-15 arasında olduğu bildirilmiştir (Betigül Ö, 2006).

Gültekin ve ark. Sivas yöresinde 231 olguda % 5 oranında *C. jejuni* saptadıklarını; (Gültekin A ve diğ., 1987), Aktaş ve Tuncel Erzurum’da 125 olguda % 9 (Aktaş O ve diğ., 1987), Akgün ve ark. Eskişehir’de 500 olguda % 1,4 (Akgün Y ve diğ., 1989), Aşçı ve ark. 1466 dışkı örneğinde % 15 (Aşçı Z ve diğ., 1992), Özkan ve Günhan, İzmir’de 191 olguda % 2 (Özkan F ve diğ., 1994), Öztürk ve ark. İstanbul’da 1890 olguda % 6,6 (Öztürk R ve diğ., 1994), Yıldırım ve Fazlı Kayseri’de 2127 dışkı örneğinde % 3 (Yıldırım S ve diğ., 1998), Özen ve ark. Denizli’de 412 olguda % 1,5 (Özen N ve diğ., 1999), Yılmaz ve ark. Edirne’de 882 dışkı örneğinde % 4

oranında *Campylobacter jejuni* bildirmişlerdir (Yılmaz A, 2005; Betigül Ö, 2006) (Tablo16).

Tablo 16: Türkiye’de 1986-2002 yılları arasında *Campylobacter jejuni* izolasyonlarını gösteren bazı çalışmalar (Yılmaz A ve diğ., 2005; Betigül Ö, 2006)

Yer	Olgu sayısı	İzolasyon oranı (%)	Araştırmacı
Sivas	231	5	Gültekin ve ark.
Elazığ	1466	15	Aşçı ve ark.
Eskişehir	500	1,4	Akgün ve ark
Diyarbakır		11	Mete ve Suay
Ankara		9	Hasçelik ve ark.
Izmir	191	2	Özkan ve Günhan
Istanbul	1890	7	Öztürk ve ark.
Izmir		7,5	Işık ve ark
Kayseri	2127	3	Yıldırım ve Fazlı
Ankara	-	6	Zarakolu ve ark
Istanbul	-	0,9	Öngen ve ark
Ankara	-	3,5	Taş ve Ardıç
Ayfon	-	7	Altındış ve Kenar
Eskişehir	-	0,6	Kanan ve Akşit
Edirne	-	4	Ateş Yılmaz ve Tuğrul
Izmir	-	0,8	Aydemir ve ark.
Istanbul	-	1,17	Erdoğan ve ark.
Erzurum	125	9	Aktaş ve Tuncel
Denizli	412	1,5	Özen ve ark.

Yukarıda, adı geçen çalışmalarda elde edilen sonuçların; örneklerin transport şartları, *Campylobacter jejuni* izolasyonda kullanılan besiyerleri, zaman ve laboratuvarlar arasındaki standardizasyon farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışılan yaş grupları, cinsiyet, ekonomik durum ve beslenme şartları gibi faktörler izolasyon oranlarını değiştirmektedir (Yıldız Ç, 2014).

Türkiye dışında yapılan çalışmalarda ise *C. jejuni* gastroenteritleri oranı değişkenlik göstermektedir (Kaakoush ve diğ; 2015).

Lee ve ark. % 8.3 *C. jejuni* saptadıklarını; (Lee G ve diğ., 2013), Mason ve ark. % 21 (Mason J ve diğ., 2013), Kubota ve ark. % 0,01 (Kubota Kve diğ., 2011), Zaidi ve ark. % 11.7 (Zaidi MB ve diğ., 2012) , Sears ve ark. % 0,16 (Sears A ve diğ., 2011), Huang ve ark. % 5-15 (Huang Lve diğ., 2009), Arsenault ve ark. % 0,03 (Arsenault J ve diğ., 2012), Nielsen ve ark. % 0,04 (Nielsen HL ve diğ., 2013), Ozfoodnet ve ark. % 0.11 (Ozfoodnet, 2012), Mukherjee ve ark. % 5-16 (Mukherjee P ve diğ., 2013), Weinberger ve ark. % 0.09 (Weinberger M ve diğ., 2013), Hauri ve ark. % 0,05-0,08 (Hauri AM ve diğ., 2013), Steens ve ark. % 0,03 (Steens A ve diğ., 2014), Bouwknecht ve ark.% 0,05 (Bouwknegt M ve diğ., 2013), Sadkowska ve ark. % 0,01 (Sadkowska M ve diğ., 2014), Benoit ve ark. % 0,18-1,28 (Benoit SR ve diğ., 2014), Randrem ve ark. % 8,9 (Randrem RV ve diğ., 2014), Swierczewski ve ark. % 5-6 *C. jejuni* varlığı bildirmişlerdir (Swierczewski BE ve diğ., 2013) (Tablo17).

Tablo 17: Çeşitli ülkelerde 1993-2012 yılları arasında *Campylobacter jejuni/coli* izolasyonlarını gösteren bazı çalışmalar (Kaakoush ve diğ; 2015).

Yer	İzolasyon oranı %	Yıl	Araştırmacı
Peru	8.3	2002-2006	Lee ve ark
Japonya	0,01	2005-2006	Kubota ve ark
Malawi	21	1997-2007	Mason ve ark
Meksika	12	2006-2007	Zaidi ve ark
Yeni Zelanda	0,16	2008	Sears ve ark
Çin	5-15	2005-2009	Huang ve ark
Kanada	0,03	2005-2009	Arsenault ve ark
Danimarka	0,04	2009-2010	Nielsen ve ark.
Avustralya	0,11	2010	Ozfoodnet ve ark
Hindistan	5-16	2003-2010	Mukherjee ve Rajendran
İsrail	0,09	2010	Weinberger ve ark
Almanya	0,05-0,08	2005-2011	Hauri ve ark
Norveç	0,03	1993-2011	Steens ve ark
Hollanda	0,05	2011	Bouwknegt ve ark
Polonya	0,01	2011-2012	Sadkowska ve Sadkowska
Guatemala	0,18-1,28	2008-2012	Benoit ve ark
Madagaskar	9	2010-2012	Randremanana ve ark
Kenya	5-6	2011-2012	Swierczewski ve O'reilly

Yaptığımız çalışmada diğer bazı çalışmalarla uyumlu olarak, toplam 300 ishali dışkı örneğinin 3'ünde (% 1) *C. jejuni* izole ettik.

Campylobacter türlerinin üretimi için, özel şartlar gerekmesi (seçici besiyeri, mikroaerofilik ortam ve 42°C'de inkübasyon), bakterilerin izolasyonu ve tür düzeyinde identifiye edilmesi zor olduğundan birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında dışkı kültürlerinde *Campylobacter* türlerinin izolasyonuna yönelik kültür işlemleri yapılmamaktadır. Bu nedenle, *C. jejuni*'ye ait veriler ancak özel çalışmalarda elde edilmektedir.

Çalışmamızda, *Campylobacter jejuni* suşlarının izole ve identifiye edilmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında kullanılan kültür protokolünün termotoleran türlerin izolasyonuna olanak sağladığının bir göstergesidir.

Rutin dışkı kültür yöntemleri, daha çok *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarını saptamaya yöneliktir. Son yıllarda kullanılan ve antibiyotik içeren (Skirrow, Preston, Butzler, Campy-BAP ve Campy-CVA) selektif besiyerleri; flora üyesi bakterinin üremesini inhibe ederek *Campylobacter* üretme şansını arttırmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda besiyerine kolistin, polimiksin ve sefalotin ilavesiyle *C. jejuni* ve *C. coli* dışında daha az karşılaşılan *Campylobacter* türlerinin üremesini engellediği bildirilmiştir (Corry E ve diğ., 1995).

Çalışmamızda, kullandığımız Skirrow besiyeri bileşimine giren maddeler; koyun kanı bakteri üremesi için besin sağlamakta, vankomisin gram pozitif bakterileri inhibe ederken, trimetoprim ve polimiksin B birçok flora üyesi gram negatif bakterinin üremesini inhibe etmektedir.

C. jejuni enfeksiyonları gelişmiş ülkelerde bütün yaş gruplarında görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, küçük yaşta immünite geliştiği için erişkin dönemde enfeksiyon daha az görülmektedir. Bu ülkelerde *Campylobacter* enfeksiyonları 5 yaş altı çocuklarda sık görülmektedir. Öztürk ve ark. 0-5 yaş grubunda *Campylobacter* izolasyon sıklığının diğer yaşlara göre daha fazla olduğunu belirtmektedirler. Hindistan'da yapılan bir çalışmada, *Campylobacter* türleri 5 yaş altında %

8,3 ve 5 yaş üstünde % 3 oranında izole edilmiştir. Kayman ve ark. 3287 dışkı örneğinin 179 (% 5,4)'unda termofilik *Campylobacter spp.* pozitif saptamış; çocuklarda % 7,5 (127/1683), yetişkinlerde ise % 3.2 (52/1604) oranında pozitiflik bildirmişlerdir (Prasad N ve diğ., 1991; Öztürk R ve diğ., 1994; Özen N, 1999; Kayman ve diğ., 2013).

Çalışmamızda ise, kültür ve moleküler testlerle *C. jejuni* varlığı saptanan ishalleri dışkı örneklerinin 4'ü pediatrik (3 ay-9 yaş) yaş grubunda, 1'i ise erişkin (25-29) yaş popülasyondaki hastalara ait olduğu belirlendi. *C. jejuni* varlığı saptanan ishalleri dışkı örneklerinde; yaşa göre anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,463$).

Son yıllarda dışkı örneklerinde *Campylobacter* DNA'sını saptayan ve tür düzeyinde identifikasyon yapabilen PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Real-Time PCR ile dışkı örneklerinde *Campylobacter jejuni* tanımlanması için hızlı, hassas, tekrar edilebilir olması ve yüksek duyarlılığa sahip olduğu son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda bildirilmektedir. Dışkı örneklerinde *Campylobacter jejuni/coli* varlığını saptamada *tuf* gen bölgesini araştıran BD MAX enterik bakteriyel panelinin rutin kültür yöntemleriyle karşılaştırılmasının değerlendirildiği bir çalışmada $1 \times 10^3 - 1 \times 10^6$ CFU/ml arasında farklı konsantrasyonlarda bakteri süspansiyonları mikroaerofil ortamda 42°C 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 1×10^3 CFU/ml konsantrasyonda geleneksel yöntemin duyarlılığı (kültürün) % 43,8 saptanırken; Real-Time PCR yönteminin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır (Neil ve diğ., 2014).

Biswas ve ark. Real-Time PCR duyarlılığını % 100 saptarken; kültür duyarlılığını % 52,9 oranında saptamışlardır (Biswas ve diğ., 2014).

Amar ve ark. İngiltere'de, 4,627 gastroenteritli olguda *Campylobacter jejuni* dahil 9 farklı enteropatojeni kültür ve moleküler yöntemler ile tanımlamaya çalışmışlardır. Kültür yöntemi ile 228 *C. jejuni* tespit edebilirlerken (% 9,4) moleküler yöntem ile 309 *C. jejuni* (% 13) tanımlamışlardır (Amar L ve diğ., 2007).

Yaptığımız çalışmada ise, Real-Time PCR yöntemi ile elde edilen sonuçlar, kültür yöntemi ile elde edilen sonuçlardan farklı bulundu. Geleneksel yöntem ile dışkı örneklerinde 3 (% 1) *C. jejuni* suşu izole ve tanımlanırken, moleküler testle 5 (% 1,7) örnekte *Campylobacter jejuni/coli* varlığı tespit ettik. Yapılan analizde, sonuçlar arasında fark bulunmamıştır ($p=0,476$).

Kültür yöntemi ile üreme saptamadığımız ancak, moleküler yöntem ile pozitif sonuç aldığımız iki örnekte bu durumun; dışkı örneklerindeki bakteri sayısının azlığından ya da canlılığını kaybetmiş olmasından kaynaklanabileceğini düşündük.

Bin dokuz yüz seksen iki yılında kültürde üreyebilme özelliklerini kaybettiği halde, metabolik aktiviteleri devam eden ve uygun koşullarda tekrar kültürde üreyebilme yeteneğine kavuşan bakterilerin varlığının ortaya konulması ile "canlı ama kültürde üretilmeyen bakteri (VBNC; viable but non-culturable)" kavramı tanımlanmıştır. *Campylobacter jejuni/coli* bu forma sahip oldukları saptanmıştır (Olca Ö, 2007).

Campylobacter türleri içerisinde; *C. jejuni* türünün hippuratı hidrolize eden tek tür olması nedeniyle, bu türün identifikasyonunda hippurat hidrolizi testinden yararlanılmaktadır. Ancak son yıllarda yapılan birçok çalışmada, hippürikaz negatif *C. jejuni* varyantlarının da olduğu saptanmıştır. Engberg tarafından yapılan çalışmaya göre *C. jejuni* türlerinin % 5'i hippuratı hidrolize etmemesi nedeniyle, *C. coli* olarak yanlış tanımlanmaktadır (Engberg J, 2006).

Al Amri ve ark. *C. jejuni hipO* genini hedefleyen PCR yöntemi ile kültür yöntemi kullanmışlardır. Kültür yöntemiyle 2 negatif örnekte, PCR yöntemi ile pozitiflik saptamışlardır. Bu iki örneğin canlı ancak kültürde üretilmeyen VBNC formu olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar *hipO* genini tespit ettiklerinden *C. jejuni* hippurat testini PCR yöntem ile karşılaştırmışlardır. Çalışmada, 39 *Campylobacter jejuni* izole edilmiştir, ancak hippurat hidrolizi testiyle izole edilen 2 *C. jejuni* negatif saptanırken,

moleküler yöntem ile pozitif saptanmıştır (Al Amri A, 2007; Sanliavcı H, 2010).

Kolackova ve ark. bu durumun, bazı *C. jejuni* izolatlarında *hippurikaz* enzimini kodlayan gen mutasyonlarından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (Kolackova I ve diğ., 2005).

Çalışmamızda, dışkı örneklerinden izole ettiğimiz *C. jejuni* suşlarının 3'ünde de hippurat hidrolizi pozitif saptandı.

Yapılan çalışmalara göre *Campylobacter* varlığı saptanan hastalarda cinsiyet açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Feizabadi ve ark. yaptıkları bir çalışmada izole edilen 40 *Campylobacter* türünün 19'u erkek ve 21'i ise kadınlardan izole edilmiştir. Sanliavcı İzmir'de yaptığı çalışmada *Campylobacter jejuni* varlığı erkeklerde daha fazla izlenmiştir (Feizabadi M ve diğ., 2007; Sanliavcı H, 2010).

Çalışmamızda ise, kültür yöntemiyle *Campylobacter jejuni* suşlarının 3'ü kadından izole edilirken moleküler testlerle pozitiflik saptanan dışkı örneklerinin 1'i kadın, diğeri ise erkek hastaya ait olduğu belirlendi.

Çalışmamızda, kadınlarda erkeklerden daha fazla *Campylobacter jejuni* varlığı saptanmıştır. Ancak *Campylobacter jejuni/coli* pozitifliği saptanan örnek sayısında; cinsiyete göre anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,584$).

Dışkıda, *C. jejuni* varlığının saptanması geleneksel yöntemlerle 41-55 saat sürerken, Real-Time PCR yöntemiyle bu sürenin 2-3 saate kadar kıaldığı raporlanmıştır (Mortensen ve diğ., 2015).

Çalışmamızda, *C. jejuni* izolasyonu 50 saat sürerken, moleküler testle 2,30 saatte pozitiflik saptanmıştır. Ancak, bu yöntemin dezavantajları; *C. jejuni* ve *C. coli* ayırımı yapamaması, çapraz reaksiyonlar, ölü ile canlı bakterileri ayırt etmemesi, suşların antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması ve pahalı olmasıdır.

Campylobacter enfeksiyonlarının genellikle yaz aylarında pik yaptığı ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalara göre *C. jejuni* izolasyon oranlarında Mayıs-Kasım ayları arasında artış olduğu, Ağustos ayında en yüksek orana

ulaştığı, Aralık-Nisan ayları arasında ise, belirgin bir azalma olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. Kayseri ve yöresinde yaptıkları çalışmada, Haziran ve Ekim ayları arasında *Campylobacter* üretebildiklerini bildirmişlerdir. Öztürk ve ark. ise Aralık-Nisan ayları arasında izolasyon oranının düşük olduğunu, Mayıs-Ağustos ayları arasında yükseldiğini bildirmişlerdir (Öztürk R ve diğ., 1994; Yıldırım S ve diğ., 1998; Yıldız Ç, 2011).

Bizim çalışmamızda da hem kültür hem de moleküler testlerle saptadığımız *Campylobacter jejuni* suşları Mayıs-Ağustos ayları arasında gelen dışkı örneklerine aitti.

Campylobacter jejuni suşlarının etken olduğu gastroenteritlerin çoğu ılımlı seyirli olduğundan antibiyotik tedavisi gerekmemektedir. Kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin yerine konması tedavinin temelini oluşturmaktadır. Enfeksiyon ciddi seyirli olduğunda veya septisemi geliştiğinde, immün sistemi baskılanmış olan, çok küçük ve çok yaşlı olan hastalar ile uzamış olan vakalarda antibiyotik uygulaması yapılmaktadır (Lindmark H, 2004).

Tedavide makrolid ve kinolon grubu antibiyotiklerin kullanılması önerilmekte olup son yıllarda kinolonlara direncin arttığı bildirilmektedir. Smith ve ark. yaptıkları bir çalışmada, *C. jejuni* suşlarında kinolon direncinde artış tespit etmişlerdir. Bu artış, 1992'de % 1,3 iken 1998'de % 10,2'ye yükselmiştir (Smith M ve diğ., 1999).

Gaudreau ve ark. çalışmalarında, *C. jejuni* suşları arasında kinolon grubu antibiyotiklere direncin arttığını saptamışlardır. Bu çalışmada *C. jejuni* suşlarının tetrasikline % 37, nalidiksik aside % 10, siprofloksasine % 8,9, eritromisine % 4 ve ampisiline % 7,5 direnç bildirilmiştir (Gaudreau ve diğ., 1997).

Moore ve ark. Kuzey İrlanda'da 1996-2000 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada, 1996 yılında 175 *Campylobacter* cinsi bakteride % 0,6 eritromisin, % 9 siprofloksasin, % 22 tetrasiklin direnci saptadıklarını; 1997 yılında 223 izolatta % 0,4 eritromisin, % 4 siprofloksasin, % 9 tetrasiklin, 1998 yılında 230 izolatta % 1 eritromisin, % 9 siprofloksasin,

% 15 tetrasiklin direnci bildirmişlerdir. Çalışmada, 2000 yılında 333 izolatta sırasıyla % 4,2 , % 17,4, % 18,6 direnç saptamışlar ve direncin en çok 1999-2000 yılları arasında yükseldiğini bildirmişlerdir (Moore E ve diğ., 2001).

Güney ve ark. toplam 379 dışkı örneğinde 13 *C. jejuni* izole etmişler, biri dışında bütün *Campylobacter jejuni* suşlarının eritromisine duyarlı; siprofloksasine % 64,3 ve tetrasiklin ile doksisisikline % 35,7 oranında dirençli olduğunu belirtmişlerdir (Güney, Başustaoğlu, 2010).

Gelişmiş ülkelerde *Campylobacter* enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik oranı araştırılan bir çalışmada, siprofloksasin direnci en düşük Danimarka' da (% 6), en yüksek Avusturya' da (% 47) raporlanmıştır (Taremi M ve diğ., 2006).

Çalışmamızda ise, *C. jejuni* suşların tümü eritromisin, azitromisin, tetrasiklin ve klindamisine duyarlı oldukları saptanmış ancak, suşların hepsi siprofloksasine dirençli bulunmuştur.

Türkiye'de *Campylobacter* yanı sıra *Salmonella* ve *Shigella*'nın araştırıldığı çalışmalarda, % 3,26-5,9 oranları ile *Salmonella* ve % 2,7-5,6 oranları ile *Shigella* türleri en sık bakteriyel etken olarak izole edilmektedir. Kuzey Gana, Danimarka, İtalya, Yunanistan ve Tayvan'dan bildirilen çalışmalarda, % 2,4-19,5 oranı ile *Salmonella* türleri, Endonezya, Ürdün ve Tanzanya'dan bildirilen çalışmalarda ise, % 3,89-12,6 oranı ile *Shigella* türleri en sık rastlanan etkenler olarak bildirilmektedir (Yazıcı V, 2008).

Yıldız ve ark. 2004 yılında 0-15 yaş grubunda 150 ishelli dışkı örneğinin 6 (% 4)'sında EHEC tespit etmişlerdir (Yıldız Ç ve diğ., 2005).

Ürdün'de 1993-94 yıllarında Mayıs-Ağustos ayları arasında 5 yaşın altında ishelli hastalarda % 4,9 *Shigella*, % 4,5 oranında *Salmonella* varlığı saptanmıştır (Youssef M ve diğ., 2000).

Ashman ve ark. yaptıkları bir çalışmada, Real-Time BD MAX Enteric Bacterial Panel ile enterik bakteriyel patojenlerini araştırmışlar; % 2,9

Salmonella spp, % 2,1 *Campylobacter jejuni/coli*, % 1,2 *Shigella spp./* Enteroinvazif *E. coli* ve 0,8 EHEC saptamışlardır (Ashman ve diğ., 2015).

Biswas ve ark. 2014 yılında yaptıkları çalışmada, Real-Time PCR Enteric Bacterial Paneli ile *Campylobacter jejuni/coli* % 5,3, *Shigella spp./* Enteroinvazif *E. coli* % 4,4, *Salmonella spp* % 1,3 oranında saptamışlardır (Biswas S ve diğ., 2014).

Çalışmamızda ise, Real-Time BD MAX Enteric Bacterial Panel ile % 2 *Campylobacter jejuni/coli* pozitifliği saptanırken; % 2,3 *Salmonella spp*, % 1,3 *Shigella spp./*Enteroinvazif *E. coli* ve % 1,3 EHEC pozitiflik saptanmıştır.

Moleküler yöntem ile *Salmonella* pozitifliği saptadığımız, 7 ishalleri dışkı örneğinin kayıtlara baktığımızda, kültür için gönderilen örneklerin 1'inde üreme saptanması, yapılan analizde sonuçlar anlamlı olarak önemli düzette farklı bulunmuştur (P=0,032).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda ve Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda, *C. jejuni* izolasyonu az da olsa rutin bakteriyolojik dışkı kültürlerinde *C. jejuni* izolasyonuna yönelik işlemlerin ihmal edilmemesi gerektiği kanısındayız. Çünkü, Türkiye'de enterik patojenlere ait sağlıklı epidemiyolojik verilerin oluşturulması gereklidir. Ayrıca *C. jejuni/coli* ve diğer enterik patojenlerin özellikle de EHEC suşlarının aranmasına yönelik seçici olarak moleküler testlerin de kullanılması yararlı olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Campylobacter jejuni gastroenteritlerinin tanısında, altın standart patojenin izolasyonudur. Bu amaçla, uygun seçici besiyerleri tercih edilmeli, uygun inkübasyon koşulları sağlanmalı ve rutin bakteriyolojik dışkı kültür işlemlerinde bu patojen gözardı edilmemelidir.

Moleküler testler pahalı olmaları, *C. jejuni* ve *C. coli* ayırımı yapamamaları yanısıra ciddi seyirli enfeksiyonlarda antibiyotik duyarlılığı tespitine olanak sağlamadığından seçici olarak tercih edilebilir.

Türkiye için, enterik patojenlere ait epidemiyolojik verilerin sağlanması amaçlanıyorsa bu durum hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir enterik patojen konumunda olan *C. jejuni* türlerinin rutin araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

7. KAYNAKLAR DİZİNİ

Aarestrup FM., Engberg J. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. *Vet Res*, 2001; 32: 311-21.

Allos M., Blaser J. *Campylobacter jejuni* and related species. In: Mandell Allos M. *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issues and Trends. *Food Safety. CID*, 2001; 32 (15): 1201-1202.

Allos M. *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis*, 2001; 32: 1201-1206.

Allos M., Gorbach S, Bartlett G, Blacklow R. *Campylobacter Infectious Diseases*, Lippincott Williams , Wilkins, Philadelphia, 3rd Edition, p: 1686-1691, 2004.

Aşçı Z., Kılıç S., Yılmaz M. Elazığ Yöresinde Diyareli Hastalarda *Campylobacter jejuni*'nin Yaygınlığı Üzerine Bir Araştırma. *İnf Derg*, 1989; 3 (4): 511-518.

Anuli N., Ajene L., Fischer Walker, Robert B. Enteric Pathogens and Reactive Arthritis: A Systematic Review of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella*-associated Reactive Arthritis. *JHPN*, 2013; 31 (3): 299-307.

Amar L., East L., Gray J., Iturriza M., Maclure A., McLauchlin J. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993–1996), *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2007; 26: 311–323.

Altekruse F.,Tollefson K. Human *Campylobacteriosis*: a challenge for the veterinary profession. *Javma*, 2003; 223 (4): 445-451.

Arda M., Minbay A., Aydın N., Akay Ö., Özgür M. Kanatlı hayvan hastalıkları, 2.baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 1994.

Al Amri A., Senok C., Ismaeel Y., Al-Mahmeed E., Botta A. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools, *J Med Microbiol*, 2007; 56 (10): 1350-5.

Arda M., Minbay A., Aydın N., Akay Ö., Kanatlı Hayvan Hastalıkları. 1. Baskı. Medisan Yayınevi, s246-256. Ankara, 2002.

Ayala A., Navas M., Flores J. Growth Capacity of Thermotolerant *Campylobacters* in Culture Media Supplemented with Pig and Cow Blood. *Arch. Biol. Technol*, 2010; 53 (5): 1087-1091.

Akgün Y., Üstünel E., Bolatlı T. Eskişehir Bölgesi'nde *Campylobacter jejuni*'nin gastroenterit etyolojisindeki yeri. *İnfek Derg*, 1989; 3: 365-73.

Arsenault J., Berke O., Michel P., Ravel A., Gosselin P. Environmental and demographic risk factors for *Campylobacteriosis*: do various geographical scales tell the same story? *BMC Infect Dis*, 2012; 12:318.

Aşçı Z., Yılmaz M., Ay S. Gastroenteritli olgularda *Campylobacter jejuni* araştırması [Özet]. XXV.Türk Mikrobiyoloji Kongresi (8-11 Eylül 1992, Bursa) Kongre Kitabı'nda. İstanbul: *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti*, 1992: 96.

Aktaş O., Tuncel E. Diyareli hastalarda *Campylobacter jejuni* yönünden bir araştırma. *Mikrobiyol Bült*, 1987; 21: 79-85.

Ashman M., Hankin M., Klein E., Alexander E., Anderson A., Zhang C. Clinical Performance of the BD MAX Enteric Bacterial Panel For Rapid Detection of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* (*coli* and

jejuni), and Shiga- Tokxin Producing *E.coli*. *BD Diagnostics*, Sparks, MD USA, 2015; 211-52.

Başustaoğlu A., Kılıç A., Özyurt M., Turhan V. *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni*'ye Bağlı Bir Bakteriyemi Olgusu. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2001; 58 (2): 67–70.

Betigül Ö., Türkiye'de İshal Etkenleri. *Ankem Derg*, 2006; 20 (2):122-134.

Benoit R., Lopez B., Arvelo W., Henao O., Parsons MB., Reyes L., Moir C., Lindblade K. Burden of laboratory-confirmed *Campylobacter* infections in Guatemala 2008–2012: results from a facility-based surveillance system. *J Epidemiol Glob Health*, 2014; 4: 51–59.

Bouwknegt M., van Pelt W., Havelaar AH. Scoping the impact of changes in population age-structure on the future burden of foodborne disease in the Netherlands, *Int J Environ Res Public Health*, 2013; 10: 2888–2896.

Bacon J., Alm A., Burr D. Involvement of a Plasmid in Virulence of *Campylobacter jejuni*, *Infect Immun*, 2000; 68: 4384-4390.

Biswas J., Ali A., Rajput P., Smith D., Goldenberg D. A parallel diagnostic accuracy study of three molecular panels for the detection of bacterial gastroenteritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014; 33: 2075–2081.

Butzler P., Dekeyser P., Detrain M., Dehaen F. Related vibrio in stools. *J Pediatr*, 1973; (82): 493–495.

Çakmak Ö., Erol İ. Importance of *Campylobacter jejuni* for Food Safety and Public Health. *TAF Prev Med*, 2010; 9 (2): 157-166.

Campylobacter jejuni/ coli Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. *TC sağlık bakanlığı*, 2015; 20:13.

Connell D., Tracz H., Neirhaus K. Ribosomal protection proteins and their mechanism of tetracycline resistance. *Antimicrob Agents and Chemotherapy*, 2003; 47: 3675-81.

Carl S., Graham M., Willison H. Monoclonal antibodies raised against Guillain Barré syndrome associated *Campylobacter jejuni* lipopoly saccharides react with neuronal gangliosides and paralyze muscle - nerve preparations .*J. Clin. Invest*, 1999; 104: 697-708.

Candan İ. *Campylobacter Jejuni* Gastroenteriti Ve Tanı Yöntemleri Türkiye klinikleri, 1985; 5: 149.

Corry E., Post E., Colin P., Laisney J. Culture media fort he isolation of *Campylobacters*, *Int J Food Microbiol*, 1995; 26: 43-76.

Doyle P., Roman J. Sensitivity of *Campylobacter jejuni* to drying. *J. Food Protect*, 1982; 45: 507-510.

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

European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal*, 2012; 10 (3): 2597.

Erdem Birsal. (1999), *Campylobacter* ve *Helicobacter*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş., Mutlu G., İmir T,Cengiz T.(Ed), 3.baskı, Ankara: *Güneş Kitabevi*, 1999; s. 531-540.

Figura N. *Campylobacter* spp. isolated from dog faeces. *Lancet*, 1991; 338: 1403.

Fitzgerald C., Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter* In: Versalovic J., Carroll C., Funke G., Jorgensen H., Landry L., Warnock W (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C, 2011; p. 885-899.

Fitzgerald C., Nachamkin I., Murray P. et al. *Campylobacter* and *Arcobacter*, *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, 9th Edition, 2007; p: 933-946.

Feizabadi M., S Dolatabadi ., Zali M. Isolation and Drug-Resistant Patterns of *Campylobacter* strains Cultured from Diarrheic Children in Tehran. *Jpn. J.Infect. Dis*, 2007; 60: 217-219.

Gorman R., Adley C. An Evaluation of Five Preservation Techniques and Conventional Freezing Temperatures of -20°C and -85°C for Long-term Preservation of *Campylobacter jejuni*, *Letters in Applied Microbiology*, 2004; 306–310.

Gaudreau C., Gilbert H. Comparison of disc diffusion and a gar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemot*, 1997; 39:707-12.

Gültekin A, Gökalp A, Bakıcı Z, Oğuz A, Sağnak G. Sivas yöresinde ishal etkenleri. *İnfek Derg*, 1987; 1: 239-46.

Güney M., Başustaoğlu A. Investigation of the Role of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in the Etiology of Acute Gastroenteritis and Their Susceptibility to Antimicrobial Agents at Gülhane

Military Medicine Academy Research Hospital. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2010; 40 (3): 183 – 192.

Guerry P., Logan S., Thornton S., Trust T. Genomic Organization and Expression of *Campylobacter* Flagellin Genes. *Journal of Bacteriology*, 1990; 1853-1860.

Hansson I., Bacteriological and Epidemiological Studies of *Campylobacter* spp. in Swedish Broilers. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, *Infectious Diseases*, 2007; 6: 72-76.

Hodinka L., Gilligan H. Evaluation of of the Campyslide agglutination test for confirmatory identification of selected *Campylobacter* species. *J Clin Microbiol*, 1988; 26: 47–49.

Hamidian M., Sanaei M., Azimi-Rad M., Tajbakhsh M., Dabiri H., Zali R. Fla-typing., RAPD analysis, isolation rate and antimicrobial resistance profile of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* of human origin collected from hospitals in Tehran, Iran. *Ann Microbiol*, 2011; 61(2): 315-21.

Handbook of microbiological media. 4th ed. Atlas RM (Ed). Washington DC: ASM Press, 2010.

Huang L., Xu Y., Bao Y., Zhou H., Ji J., Zhang G., Liu PH., Jiang F., Pan M., Liu F., Jiao A. Epidemiological surveillance of *Campylobacter jejuni* in chicken, dairy cattle and diarrhoea patients. *Epidemiol Infect*, 2009; 137: 1111–1120.

Hauri AM., Just M., McFarland S., Schweigmann A., Schlez K., Krahn J. 2013. *Campylobacteriosis* outbreaks in the state of Hesse, Germany,

2005–2011: raw milk yet again. *Dtsch Med Wochenschr*, 2013; 138:357–361.

Hasçelik G. (2008). *Campylobacter* Türleri. Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay M., (Ed). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. üçüncü baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevileri, 2215-2222.

Jones S., Orcutt M., Little B. Vibrios (*Vibrio jejuni* n.sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. *J Exp Med*, 1931; 53:853–864.

Jerris C, Fields I, Nicholson A. Fecal culture for *Campylobacter* and related organisms. In: Garcia LS, Isenberg HD, Ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 3rd ed. Washington DC: ASM Press; 2007.

Karakuş., S. (2011). Kars Yöresindeki Sığır, Koyun ve İnsanlardan Termofilik *Campylobacter*'lerin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Moleküler Tiplendirilmesi, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars

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

Kubota K., Kasuga F., Iwasaki E., Inagaki S., Sakurai Y., Komatsu M., Toyofuku H., Angulo J., Scallan E., Morikawa K. Estimating the burden of acute gastroenteritis and foodborne illness caused by *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Vibrio parahaemolyticus* by using populationbased telephone survey data, Miyagi Prefecture, Japan, 2005 to 2006. *J Food Prot*, 2011; 74: 1592–1598.

Kanan B., Akşit F. Akut Gastro-enteritli Olgularda *Campylobacter* Sıklığının Araştırılması. *Enfeksiyon Dergisi*, 2003; 17 (1): 11-14.

Kaakoush N., Rodriguez N., Mitchell H., Man S. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *CMR*, 2015; 28 (3): 687-720.

Ketley M. Pathogenesis of Enteric *Campylobacter* Infection. *Journal of Applied Microbiology*, 2001; 90:455-565.

Konkel E., Garvis G., Tipton L., Erson E., Cieplak W. Identification and Molecular Cloning of a Gene Encoding a Fibronectin Binding Protein (CadF) from *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol*, 1997; 24: 953-963.

Kolackova I., Karpiskova R. Species level identification of thermotolerant *Campylobacters*. *Vet. Med. Czech*, 2005; 50 (12):543-547.

Lin J., Sahin O., Michel O., Zhang Q. Critical role of multidrug efflux pump CmeABC in bile resistance and in vivo colonization of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun*, 2003; 71 (8): 4250-4300.

Lee G., Pan W., Penataro Yori P., Paredes Olortegui M, Tilley D, Gregory M, Oberhelman R, Burga R, Chavez B, Kosek M. Symptomatic and asymptomatic *Campylobacter* infections associated with reduced growth in Peruvian children. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013; 7: 2036.

Lindmark H., Harbom B., Thebo L., Andersson L., Hedin G., Osterman B., Lindberg T., Characterization and Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni* Isolated from Meats, Water, and Humans in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004; 42 (2): 700-706.

Monteville R., Yoon J E., Konkel E. Maximal adherence and invasion of Int 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization. *Microbiology*, 2003; 149:153- 165.

Moore E., Crowe M., Heaney N., Crothers E. Antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from human faeces (1980-2000) and foods (1997-2000) in Northern Ireland: an update, *J Antimicrob Chemother*, 2001; 48 (3): 455-7.

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

Murray R., Baron E., Jorgensen H. *Kampilobakterler ve Helikobakterler* (Çev: Başustaoğlu C) s.933-.951 *Klinik Mikrobiyoloji*. 9. Baskı, Atlas kitapçılık, Ankara, 2009.

Maridor L., Beaudreau F., Seegers H., Denis M. Rapid identification and quantification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by real-time PCR in pure cultures and in complex samples. *BMC Microbiology*, 2011; 11:113.

Mukherjee P., Ramamurthy T., Bhattacharya K., Rajendran K., Mukhopadhyay AK. *Campylobacter jejuni* in hospitalized patients with diarrhea, Kolkata, India. *Emerg Infect Dis*, 2013; 19: 1155–1156.

Mcsweegan E., Walker I. Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. *Infect. Immun*, 1986; 53 (1): 141-148.

Mason J., Iturriza-Gomara M., O'Brien J., Ngwira M., Dove W., Maiden MC., Cunliffe A. *Campylobacter* infection in children in Malawi is common and is frequently associated with enteric virus coinfections. *PLoS One*, 2013; 8: e59663.

Mortensen J., Ventrola C., Hanna S., Walter A. Comparison of time-motion analysis of conventional stool culture and the BD MAX™ Enteric Bacterial Panel (EBP). *BMC Clinical Pathology*, 2015; 15(9): 1186-12907.

McFadyean J., Stockman S. Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into Epizootic Abortion. III. Abortion in Sheep London: HMSO, 1913.

Nauta M., Hill A., Rosengquist H., Brynstad S. A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *International Journal of Food Microbiology*, 2009; 129 (2): 107-123.

Nachamkin Irving. Chronic effects of *Campylobacter* infection. *Microbes and Infection*, 2002; 4: 399-403.

Nielsen L., Ejlersen T., Engberg J., Nielsen H. 2013. High incidence of *Campylobacter concisus* in gastroenteritis in North Jutland, Denmark: a population-based study. *Clin Microbiol Infect*, 2013; 19: 445-450.

Neil A., Blake W., Buchan L. Comparison of the BD MAX Enteric Bacterial Panel to Routine Culture Methods for Detection of *Campylobacter*, Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (O157), *Salmonella*, and *Shigella* Isolates in Preserved Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014; 52 (4): p. 1222-1224.

Newell G., McBride H., Dolby M. Investigations on the Role of Flagella in the Colonization of Infant Mice with *Campylobacter jejuni* and Attachment of *Campylobacter jejuni* to Human Epithelial Cell Lines. *J. Hyg. Camb*, 1985; 95: 217-227.

Niederer L., Kuhnert P., Egger R., Büttner S., Hachler H., Korczak M. Genotypes and antibiotic resistances of *Campylobacter jejuni* and

Campylobacter coli isolates from domestic and travel-associated human cases. *Appl Environ Microbiol*, 2012; 78(1): 288-91.

Olson K., Ethelberg S., van Pelt W., Tauxe V.(2008) Epidemiology of *Campylobacter* infections in industrialized nations. In: Nachamkin I, Zymanski M, Blaser J, (Ed). *Campylobacter* 2008. 3rd edition. Washington DC: ASM Press, pp. 163-191.

Obiri-Danso K., Paul N., Jones K. The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari* and urease-positive thermophilic *Campylobacters* (UPTC) in surface waters. *J.Appl. Microbiol*, 2001; 90 (2): 256-267.

Oryan M., Vidal R., Canto F., Salazar J. Vaccines for viral and bacterial pathogens causing acute gastroenteritis: Part II: Vaccines for *Shigella* , *Salmonella*, enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) and *Campylobacter jejuni*. *Human Vaccines and immune therapeutics*, 2015; 11: 3, 601-619.

Ozfoodnet working group. Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: annual report of the Ozfoodnet network, *Commun Dis Intell Q Rep*, 2012; 36: E213–E241.

Olcay Ö. Bakterilerin Canlı Ama Kültürde Üretilmeyen Formları. *Mkro biyo loji Bült*, 2007; 2007; 41: 477-484.

Öngen B., Diktaş M., Aydın S., Nazik H. Enteropathogenic bacteria detected in stool samples detected in a ten year period in Istanbul, Turkey. 4th Eurasia Congress of *Infectious Diseases*, 2011; 1-5.

Özkan Ö. (2012). Tavuk Orjinli Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Biyofilim Özellikleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

Özkan F., Günhan C. Gastro-enteritlerin *Campylobacter* türleri yönünden incelenmesi. *İnfek Derg*, 1994; 8: 127-30.

Özen.,N, Kaleli., İ, Şengül., M, Akşit., F. Akut Gastro enteritli Olgularda *Campylobacter* Sıklığının Araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 1999; 33: 89-98.

Öztürk F., Yıldırım Ö., Eroğlu C., Sancak R. Samsun Bölgesinde Çocukluk Çağı İshallerinde *Campylobacter* Cinsi Bakterilerin Yeri. *O.M.Ü Tıp Derg*, 1998; 15 (3): 209-215.

Öztürk R., Midilli K., Okyay K. Çocuk ve erişkin yaş grubu sürgün olgularında *Campylobacter jejuni* ve sıklığının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 1994; 24: 42-5.

Polat E. (2008). Akut İshallerde *Campylobacter jejuni* ve Diğer Etyolojik Ajanların Hızlı Tanısında Moleküler Yöntemlerin değeri, Uzmanlık tezi, Çukurova üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.

Pickering K., Shane L. (2012), Approach to the diagnosis and management of gastrointestinal tract infections, "Long SS, Pickering LK, Prober CG (Ed). Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, 4.baskı, Philadelphia, USA: Elsevier, s. 372-7.

Pacanowski J., Lalande V., Lacombe K., Boudraa C. *Campylobacter* Bacteremia: Clinical Features and Factors Associated with Fatal Outcome. *CID*, 2008; 47 (15): 791.

Prasad N., Anupurba S., Dhole N. Enterotoxogenic *Campylobacter jejuni* and *C.coli* in the etiology of diarrhoea in northern India. *Indian J. Med Res*, 1991; 93(A): 81-86.

Rautelin H., Jusufovic J., Hanninen M.L., Identification of Hippurate Negative Thermophilic *Campylobacters*, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1999; 35: 9-12.

Randrem V., Randrianirina F., Sabatier P., Rakotonirina C., Randriamanantena A., Razanajatovo M., Ratovoson R., Richard V. *Campylobacter* infection in a cohort of rural children in Moramanga, Madagascar. *BMC Infect Dis*, 2014; 14: 372.

Rollins D, Colwell R. Viable but non-culturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in the natural aquatic environment. *Appl Environ Microbiol*, 1986; 52: 531-538.

Samuel C., Vugia J., Shallow S., Marcus R., Segler S. Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, Food Net 1996-1999. *Clin Infect Dis*, 2004; 38:165-74.

Sav H., Altay M., Yücesoy M., Perçin D. Karaciğer sirozlu hastada *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*'ye bağlı bakteriyemi: Olgu sunumu. *Diclemed.j*, 2012; 39 (2): 296-298.

Seytinoğlu Ş., Ceylan Z. Erzurum Piyasasında Tüketime Sunulan Tavuk Döner'de *Campylobacter* spp Varlığının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi *Vet. Bil. Derg*, 2014; 9 (2): 104-111.

Skirrow B. Diseases Due To *Campylobacter*, *Helicobacter* And Related *Bacteria*. *J. Comp. Path*, 1994; 111: 113-149.

Skirrow B. *Campylobacter* enteritis: a 'new' disease. *BMJ* 1977; 2:9-11.

Smibert M. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2th Ed. USA: Springer, 2005; 145-116.

Stern J., Patton M., Doyle P., Park E., Mccardell A. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 1992; 29: 475-489.

Shiramaru S., Asakura M., Inoue H., Nagita A., Matsuhisa A., Yamasaki S. A cytolethal distending toxin gene-based multiplex PCR assay for detection of *Campylobacter* spp. in stool specimens and comparison with culture method. *J Vet Med Sci*, 2012; 74 (7): 857-62.

Steens A., Eriksen M., Blystad H. What are the most important infectious diseases among those 65 years: a comprehensive analysis on notifiable diseases, Norway, 1993-2011. *BMC Infect Dis*, 2014; 14:57.

Swierczewski E., Odundo A., Koech C., Ndonge N., Kirera K., Odhiambo P., Enteric pathogen surveillance in a case-control study of acute diarrhea in Kisumu Town, Kenya. *J Med Microbiol*, 2013; 62: 1774-1776.

Sanliavcı H. (2010). Diyareli hastalarda *Campylobacter* spp. ve Enterohemorajik *Escherichia coli* sıklığının araştırılması, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

S.L.W On. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *J Appl Microbiology*, 2001; 90: 1-15.

Sadkowska M., Kucharczyk B. *Campylobacteriosis* in Poland in 2012. *Przegl Epidemiol*, 2014; 68:239–241, 249–251.

Sears A., Baker G., Wilson N., Marshall J., Muellner P., Campbell M., Lake J., French P. Marked *Campylobacteriosis* decline after interventions aimed at poultry, New Zealand. *Emerg Infect Dis*, 2011; 17: 1007–1015.

Smith M., Besser S., Craig W., Hedberg., D. Quinolone-Resistant *Campylobacter jejuni* Infections in Minnesota, 1992–1998. *The New England J Medicine*, 1999; 340: 1525-1532.

Taş Emel, Ardiç Nurittin, Akut Gastroenteritli Olgularda Termofilik *Campylobacter*, *E. coli* O157: H7 ve Rotavirüs Sıklığı, *Klimik Dergisi*, 2004; 17 (3): 186-190.

Taylor V., Williamson J., Luck J., Coleman D., Jones D. ve McGregor A. Sensitivity and Specificity of Serology in Determining Recent Acute *Campylobacter* Infection. *Internal Medicine Journal*, 2004; 34: 250–258.

Taremi M., Dallal S., Gachkar, L., MoezArdlan, S., Zolfagharian K., Zali R., "Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran", *Int. J. Food Microbiol*, 2006; 17: 321-325.

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, *Campylobacter jejuni/coli* Enfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısı. *T.C. Sağlık Bakanlığı*, 1915; 20 (18).

Üstünel E. (1986). Eskişehir bölgesinde Gastroenterit Etiyolojisinde *Campylobacter Jejuni*'nin Yeri, Uzmanlık Tezi, Anadolu Üniversitesi TIP Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir.

Vandamme P., Falsen E., Rossau R., Hoste B., Segers P., Tytgat R. "Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* Taxonomy: Emendation of generic descriptions and preposal of *Arcobacter*" *J. Syst. Bacteriol*, 1991; 41(1): 88-103.

Veron M, Chatelain R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Veron. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1973; 23:122-134.

Vandenberg O, Skirrow MB, Butzler JP. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Borriello P, Murray R, Funke G, editörler. *Topley, Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th ed. Washington DC: *ASM Press*, 2005; pp. 1541-1553.

Wang H., Murdoch R. Detection of *Campylobacter* Species in Faecal Samples by Direct Gram Stain Microscopy. *The Journal of the Royal College of Pathologists of Australasia*, 2004; 36 (4): 343-344.

Weinberger M., Lerner L., Valinsky L., Moran-Gilad J., Nissan I., Agmon V., Peretz C. Increased incidence of *Campylobacter spp.* infection and high rates among children, Israel. *Emerg Infect Dis*, 2013; 19: 1828-1831.

Wassenaar M. Toxin production by *Campylobacter*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997; 10: 466-476.

Walker R., Blake M., Caldwell C. Pathophysiology of *Campylobacter* Enteritis. *Microbiol Reviews*, 1986; 50: 81-94.

Yazıcı V. (2008). Dışkı Örneklerinde Gastroenterit Etkenlerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

Yeliz Y. Antimikrobiyel Duyarlılık Testleri; İlgili Metodlar, Sonuçların Yorumlanması ve Kanatlılarda Bulunan Bazı Bakterilerdeki Dirençlilik, *J Fac Vet Med*, 2010; 7 (2): 117-129.

Yılmaz A., Tuğrul H. Edirne'de İshal Etkenlerinin Arasında *Campylobacter* Türlerinin Yerinin ve Antimikrobiklere Duyarlıklarının Araştırılması. *Turkish Journal of Infection*, 2005; 19 (1): 53-59.

Yıldız Ç. (2011) Mersin İlinde Çocukluk Çağı Akut Gastroenteritlerinde *Campylobacter* Türlerinin Görülme Sıklığı, Uzmanlık Tezi, Mersin Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

Yıldız Ç., Öztürk C., Emekdaş G. Gastroenteritli olgularda *Escherichia coli* O157:H7 serotipinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 2005; 19 (2):189-92.

Yıldırım S, Fazlı A. Kayseri yöresinde bakteriyolojik kültür için gönderilen dışkı örneklerinde *Campylobacter*'lerin izolasyon ve identifikasyonu, *Enfeksiyon Derg* 1998; 12 (3): 317-22.

Youssef M., Shurman A., Bougnoux E., Rawashdeh M., Bretagne S., Strockbine N. Bacterial, Viral and Parasitic Enteric Pathogens Associated with Acute Diarrhea in Hospitalized Children from Northern Jordan. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2000; 28: 257-263.

Zaidi B., Campos D., Estrada T., Gutierrez F., Leon M., Chim R., Calva J. Burden and transmission of zoonotic foodborne disease in a rural community in Mexico. *Clin Infect Dis*, 2012; 55: 51–60.

8. ETİK KURUL ONAYI



REKTÖRLÜK - FAKÜLTELER - MESLEK YÜKSEKOKULU
Altunizade Mah. Haluk Türkoş Sok. No:14 PK:34662 Üsküdar / İstanbul / Türkiye
Tel: +90 216 400 22 22 Fax: +90 216 476 12 56 E-posta: info@uskudar.edu.tr
www.uskudar.edu.tr

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK
KURULU BAŞKANLIĞI

SAYI: 61351342 /2015- 03

12.02.2015

Sayın Prof. Dr. Gül DÜRMAZ

Üsküdar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 04 Şubat 2015 tarihinde 44 nolu toplantısında "Enfeksiyöz İshallerde Campylobacter Jejuni Prevalansının Çeşitli Yöntemlerle Araştırılması" adlı araştırma projenin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Uzm. Dr. Havva Nüket İŞTEN
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

Eklere :
Ek 1 : Klinik Araştırma Etik Kurulu Karar Raporu (3 sayfa)

9. TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji alanında yetişmemde katkıda bulunan, desteklerini esirgemeyen, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım ve engin tecrübelerinden faydalandığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı ve aynı zamanda danışman hocam Sayın Prof.Dr. Gül DURMAZ'a teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki diğer hocalarıma, çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Yurdanur AKGÜN, Prof.Dr. Tercan US, Prof.Dr. Nihal Doğan, DOÇ.Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ, DOÇ.Dr. Yasemin ÖZ, DOÇ.Dr. Nilgün KAŞİFOĞLU, Sağlık Bilimleri Enstitüsü müdürü Prof.Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ ve Sağ. Tek. Fadime Subaşı Uluyol başta olmak üzere Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarının tüm çalışanlarına teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Ayrıca doktora süresince maddi desteklerini esirgemeyen Yurt Dış Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na, iyi ve kötü günlerimde hep yanımda olan aileme teşekkür etmeyi borç bilirim.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Bashar İBRAHİM ÇELEBİ

UYRUĞU: Irak

Medeni durumu: Bekar

- Irak Musul Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü 2006-2007 Öğretim Yılı Lisans Mezunu.
- 2007- 2008 yılları arası TÖMER (Türkçe öğrenim Merkezi)
- 2008-2009 yılları arası Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü’de Yüksek Lisans programı
- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD tarafından düzenlenen “Tanısal Moleküler Mikrobiyoloji Teorik ve Uygulamalı Kursu” 18-19-20 Aralık 2009
- 15-19 Haziran 2010 tarihleri arasında Ankara Mikrobiyoloji Derneği ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından, Ankara ODTÜ Kültür ve Kongre Merkezi’nde düzenlenen 6. Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi
- 2010 Türkiye’de Japonya Yılı etkinlikleri kapsamında 3 Aralık 2010’de Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen ((SKİN MİKROBİYOLOGY)) SİMPOZYUMU
- “ALLOJENİK LÖSEMİLİ HASTALARDA NAKİL ÖNCESİ VE NAKİL SONRASI HEPATİT E’ NİN YAYGINLIĞININ ARAŞTIRILMASI” Yüksek Lisans Tez konusu
- 23-26 Haziran 2011 tarihlerinde Dedeman Hotel, İstanbul’da gerçekleştirilmiş olan Uluslararası Katılımlı 4. Ulusal Viroloji Kongresi
- 30 Nisan 2012 tarihinde Ankara’da düzenlenen ((II. Ulusal HPV ve Kansere Sempozyumu))

- 17-20 Nisan 2014 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından düzenlenen 2. Ulusal Sağlık Bilimleri Lisansüstü Öğrenci Kongresi ve Kök Hücre Öğrenci Sempozyumu
- 12-16 Kasım 2014'te (Staphylococcus Türlerinde Vankomisin ve Teikoplanin Mik Değerlerinin Dört Yıllık Analizi). PS-045. Kaya Palazzo hotel xxxvi. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya
- 15.05.2015 İmmunblot Teknikleri (EUROLINE, WESTERNBLOT) EurolineScan Program yazılımı kullanımı ve İndirekt İmmunfloresan Tekniği kursu