

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**BROİLER KARKASLARINDAN İZOLE EDİLEN
CAMPYLOBACTER JEJUNI İZOLATLARININ
MAKROLİD, KİNOLON VE TETRASİKLİN GRUBU
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ DURUMU**

**Hazırlayan
Harun HIZLISOY**

**Danışman
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ**

Doktora Tezi

**HAZİRAN 2014
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**BROİLER KARKASLARINDAN İZOLE EDİLEN
CAMPYLOBACTER JEJUNI İZOLATLARININ
MAKROLİD, KİNOLON VE TETRASİKLİN GRUBU
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ DURUMU**

**Hazırlayan
Harun HIZLISOY**

**Danışman
Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ**

Doktora Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Tarafından TSD-12-3898 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**HAZİRAN 2014
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Harun HIZLISOY

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Broiler Karkaslarından İzole Edilen *Campylobacter jejuni* İzolatlarının Makrolid, Kinolon ve Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Durumu” adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan

Harun HIZLISOY



Danışman

Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ



Anabilim Dalı Başkanı

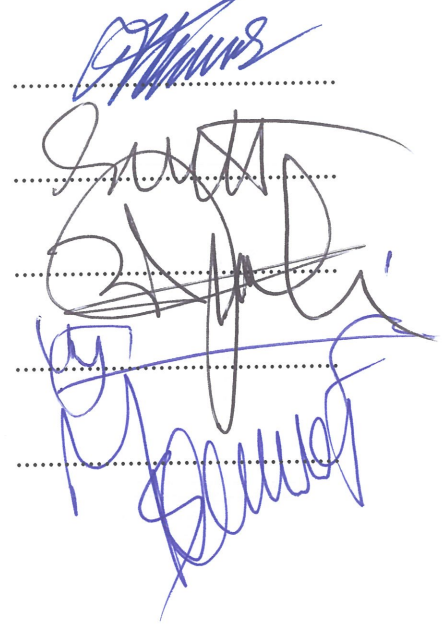
Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY

Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ danışmanlığında **Harun HIZLISOY** tarafından hazırlanan “**Broiler Karkaslarından İzole Edilen *Campylobacter jejuni* İzolatlarının Makrolid, Kinolon ve Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Durumu**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

26 / 06 / 2014

JÜRİ

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ
Üye : Prof. Dr. Fuat AYDIN
Üye : Prof. Dr. Erol BAYTOK
Üye : Prof. Dr. Murat YILDIRIM
Üye : Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY

İmza**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2014

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**Enstitü Müdürü**

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde rehberlik eden, araştırmalarımda bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ'a, tez dönemim boyunca çalışmalarımı yönlendirmemde bana destek olan Sayın Prof. Dr. Fuat AYDIN'a, Sayın Doç. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY'a, çalışmanın tüm aşamalarında değerli katkılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Seçil ABAY ve Yrd. Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, çalışmanın istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Aytaç AKÇAY'a, desteklerini esirgemeyen eşim Özlem HIZLISOY'a, anneme ve babama en içten duygularıyla teşekkür ederim. Ayrıca, projemi destekleyen “Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne” teşekkürlerimi sunarım.

**BROİLER KARKASLARINDAN İZOLE EDİLEN *CAMPYLOBACTER JEJUNI*
İZOLATLARININ MAKROLİD, KİNOLON VE TETRASİKLİN GRUBU
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ DURUMU**

Harun HIZLISOY
Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi, Haziran 2014
Danışman: Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

KISA ÖZET

Bu çalışmada broiler karkaslarından *Campylobacter jejuni* izolasyonu, elde edilen izolatların makrolid, kinolon ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençlerinin ortaya konulması, Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeylerinin tespiti, genomik ve plazmid kaynaklı direnç genlerinin gösterilmesi ve direnç epidemiyolojilerindeki mevsimsel farklılıkların belirlenmesi amaçlandı.

Campylobacter jejuni izolasyonu amacıyla, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde Kayseri ilindeki süpermarketlerden satın alınan but, göğüs, kanat ve bütün tavuk olmak üzere toplam 200 örnek incelendi. Örneklerden elde edilen izolatların identifikasyonu, fenotipik testler ve multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR) ile gerçekleştirildi. *C. jejuni*'lerin antibiyotiklere direnç durumları disk difüzyon testi ile; MİK dağılımları ise E test ile saptandı. Aynı zamanda antibiyotiklere dirençlilikleri; PZR ve sekans analizi gibi moleküler yöntemlerle test edildi.

Fenotipik testlerle Haziran 2012 döneminde toplanan 100 örneğin 81'i, Ocak 2013 döneminde ise 100 örneğin 77'si *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. mPZR testi ile Haziran 2012 döneminde *Campylobacter* spp. izolatlarından, 88; Ocak 2013 döneminde ise 68 *C. jejuni* tespit edildi. İzolasyon ve identifikasyon sonuçları bakımından dönemler arasındaki fark istatistiksel yönden (Ki kare testi) önemli bulunmadı ($P>0,05$). Disk difüzyon testinde en yüksek direnç oranları, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemi izolatları için sırasıyla nalidiksik asit (% 78,4-% 92,6), siprofloksasin (% 67,1-% 86,7) ve tetrasikline (% 55,6-% 64,7) karşı gözlenirken, en düşük oranlar ise azitromisin (% 1,1-% 4,4), doksisisiklin (% 2,2-% 1,4) ve eritromisine (% 11,3-% 4,4) karşı bulundu. E test sonuçları ile disk difüzyon testi sonuçlarının

uyumlu olduğu belirlendi. İzolatların test edilen antibiyotiklere duyarlılıklarında her iki dönem arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($P>0,05$). Tetrasiklin direnci yönünden genomik *tetO* geni; Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemi izolatlarının sırasıyla % 88 ve % 85,7’inde gösterilirken; plazmid aracılı *tetO* geni izolatların % 93,7 ve % 85,7’sinde tespit edildi. Makrolid direncinde 23S rRNA’da A2074C mutasyonuna izolatların hiçbirinde rastlanmazken; A2075G mutasyonuna Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde izolatların % 18,4 ve % 14,8’inde rastlandı. Genomik kinolon direncinde *gyrA* geni üzerindeki mutasyonlar, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde, izolatların % 83,5 ve % 81,8’inde tespit edilirken; plazmid aracılı kinolon direnci amacıyla incelenen *qnr* geni, izolatların hiçbirinde bulunamadı. PZR ile saptanan kinolon ve makrolid direnci, DNA sekans analizi ile doğrulandı. Sekans analiziyle kinolon dirençli izolatlarda Tre-86-İle mutasyonuna rastlanırken; duyarlı izolatlarda bu mutasyona rastlanmadı. Sekans analizi ile makrolid dirençli izolatlarda A2075G mutasyonu tespit edildi. Ancak, hiçbir izolatta A2074C mutasyonuna rastlanmadı. Duyarlı izolatların hiçbirinde de bu iki mutasyon görülmedi.

Sonuç olarak; tavuk etindeki antibiyotiklere dirençli *C. jejuni* varlığı nedeniyle koruyucu tedbirlerin alınması, tedavi edici amaçla bilinçsiz antibiyotik kullanımının engellenmesi, dar spektrumlu antibiyotik kullanımının tercih edilmesi ve antibiyotik uygulanan hayvanlarda, kullanılan antibiyotiğin organizmadan atılma süreleri tamamlanmadan hayvanların kesilip tüketime sunulmaması gerektiği, *Campylobacter* spp. enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan eritromisine ilaveten azitromisinin ve doksisisiklinin de alternatif olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Broiler, *Campylobacter jejuni*, kinolon, makrolid, tetrasiklin.

**THE RESISTANCE STATE OF *CAMPYLOBACTER JEJUNI* ISOLATED FROM
BROILER CARCASSES AGAINST TO MACROLIDE, QUINOLONE AND
TETRACYCLINE GROUPS OF ANTIBIOTICS**

Harun HIZLISOY
Erciyes University, Graduate School of Health Sciences
Department of Veterinary Microbiology
PhD Thesis, June 2014
Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

ABSTRACT

In this study, to isolate *Campylobacter jejuni* from broiler carcasses, to reveal the resistance to macrolide, quinolone and tetracycline groups of antibiotics, to determine the MIC values, to demonstrate the genomic and plasmid mediated genes played role in resistance and to evaluate the seasonal differences in the resistance epidemiology of obtained isolates were aimed.

For the isolation of *C. jejuni*, a total of 200 samples including chicken thigh, breast, wings and carcasses purchased from supermarkets in Kayseri province were examined as materials in June 2012 and January 2013. The identification of the isolates was performed by phenotypical tests and multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) method. The antibiotic resistance and MIC values of *C. jejuni* isolates were detected with disk diffusion and Etest method, respectively. In addition, the antibiotic resistances were examined by using PCR and sequencing.

Eighty one of 100 samples collected in June and 77 of 100 samples in January were found to be positive in terms of *Campylobacter* spp. with phenotypical tests. By using of mPCR, 88 and 68 *C. jejuni* isolates were detected from *Campylobacter* spp. isolates during June 2012 and January 2013 terms, respectively. According to isolation and identification results, the differences between June and January periods were not statistically (Qhi-squared test) significant ($P>0,05$). In disk diffusion test, while, the highest resistance rates were observed as nalidixic acid (78,4% - 92,6%), ciprofloxacin (67,1% - 86,7%) and tetracycline (55,6% - 64,7%), the lowest resistance rates as azithromycin (1,1% - 4,4%), doxycycline (2,2% - 1,4%) and erythromycin (11,3% - 4,4%), for the period June and January, respectively were determined. It was determined that Etest results were compatible with disk diffusion test. The differences

between June and January periods in terms of the tested antibiotics were not statistically important ($P>0,05$). Whilst, chromosomal *tetO* gene was shown in June and January isolates at 88 % and 85,7 % rates, plasmid mediated *tetO* gene was found at 93,7% and 85,7% rates, respectively. In macrolide resistance, while A2075G mutation was detected in 23SrRNA at rates 18,4 % and 14,8 % of June 2012 and January 2013 isolates, A2074C mutation was not observed at any of June 2012 and January 2013 isolates, respectively. When, in chromosomal quinolone resistance, the mutations in *gyrA* gene were detected at rates of 83,5% and 81,8% in June 2012 and January 2013 isolates, respectively, *qnr* gene examined for plasmid mediated quinolone resistance was found in none of *C. jejuni* isolates. Quinolone and macrolide resistances detected by PCR were confirmed by DNA sequencing. While, Tre-86-Ile mutation was found in quinolone resistant isolates with sequencing, but these mutations were not detected in susceptible isolates. Additionally, A2075G mutation was detected in macrolide resistant isolates. However, A2074C mutation was not observed in any isolates by using sequencing. It was not observed that none of the macrolide susceptible isolates had any of these two mutations.

In conclusion, due to the presence of antibiotic resistant *C. jejuni* detected in chicken meat, protective measures should be taken, for therapeutic purposes, the misusing of antibiotics may be prohibited and the using of narrow-spectrum antibiotics may be preferred, in animals treated with antibiotics, before the completion of withdrawal period of antibiotics from organisms, animals may not be cut and presented for consumption. Besides, it is considered that in the treatment of *Campylobacter* infections, azythromycin and doxycycline may be used as alternative to erythromycin is the drug of choice.

Keywords: Broiler carcass, *Campylobacter jejuni*, macrolide, quinolone, tetracycline

İÇİNDEKİLER

BROİLER KARKASLARINDAN İZOLE EDİLEN *CAMPYLOBACTER JEJUNI* İZOLATLARININ MAKROLİD, KİNOLON VE TETRASİKLİN GRUBU ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ DURUMU

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
KISA ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.TARİHÇE ve TAKSONOMİ.....	3
2.2. KAMPİLOBAKTERLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ	6
2.2.1. Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri	6
2.2.2. Biyokimyasal Özellikleri	10
2.2.3. Üreme ve Kültür Özellikleri	11
2.2.4. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Duyarlılık.....	16
2.2.5. Patogenez ve Virülens Faktörleri.....	17
2.3. <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i>	20
2.4. <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> ENFEKSİYONLARI.....	21
2.4.1. İnsanlarda.....	21

2.4.2. Sığır ve koyunlarda	22
2.4.3. Kedi ve köpeklerde	22
2.4.4. Kanatlılarda	23
2.5. <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> ENFEKSİYONLARINDA TANI	24
2.5.1. Mikroskopik İnceleme	24
2.5.2. İzolasyon ve İdentifikasyon	24
2.5.3. Moleküler Tanı Yöntemleri	27
2.6. <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> ENFEKSİYONLARINDA KORUNMA ve TEDAVİ	29
2.7. ANTİBAKTERİYELLER ve DİRENÇ MEKANİZMALARI	30
2.7.1. Etki Mekanizmaları	30
2.7.2. Makrolid Grubu Antibiyotikler ve Direnç	32
2.7.3. Kinolon Grubu Antibiyotikler ve Direnç	34
2.7.4. Tetrasiklin Grubu Antibiyotikler ve Direnç	36
2.7.5. Antibakteriyel Duyarlılık Testleri	37
2.7.5.1. Disk Difüzyon Testi	37
2.7.5.2. Dilüsyon Testleri	38
2.7.5.3. E (Epsilometer) Test	39
2.7.5.4. Otomatize Sistemler	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Gereç	41
3.2. Tavuk Etlerinden <i>Kampilobakter</i> Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplementler ve Diğer Kimyasallar	42
3.2.1. Kanlı Agar	43
3.2.2. Gliserinli Brucella Broth	43
3.2.3. Katalaz Test Ayırıcı	44
3.2.4. Oksidaz Test Kiti	44
3.2.5. Triple Sugar Iron (TSI) Agar	44

3.2.6. Mikroaerobik Ortam Kitleri.....	45
3.3. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler.....	45
3.3.1. Primer Çiftleri.....	46
3.3.2. TBE Solüsyonu.....	47
3.3.3. Ethidium Bromide	47
3.3.4. Agaroz jel.....	47
3.3.5. Standart Suş	47
3.3.6. DNA Estraksiyon Kiti	47
3.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	47
3.5. Sekans Analizi.....	48
3.5.1. Kinolon Direnci Sekans Analizi	48
3.5.2. Makrolid Direnci Sekans Analizleri	48
3.6. Yöntem	49
3.6.1. Kampilobakter Türlerinin İzolasyonu.....	49
3.6.2. <i>Campylobacter jejuni</i> İdentifikasyonu	49
3.6.2.1. Gram Boyama ve Mikroskobik Muayene.....	49
3.6.2.2. Hareket Testi.....	49
3.6.2.3. Katalaz Testi	50
3.6.2.4. Oksidaz Testi	50
3.6.3. <i>Campylobacter</i> spp. İzolatlarının Muhafazası.....	50
3.6.4. <i>Campylobacter</i> spp. İzolatlarının mPZR Yöntemi ile İdentifikasyonu	50
3.6.4.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu	50
3.6.4.2. Plazmid DNA Ekstraksiyonu.....	52
3.6.4.3. Multipleks Polimer Zincir Reaksiyonu (mPZR).....	53
3.7. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ.....	54
3.7.1. Disk Difüzyon Testi.....	54
3.7.2. E (Epsilometer) Test.....	54

3.8. ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN GENETİK ANALİZİ	55
3.8.1. Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi.....	55
3.8.1.1. Genomik Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi.....	55
3.8.1.2. Plazmid Aracılı Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi.....	56
3.8.2. Makrolid Direncinin İncelenmesi	56
3.8.3. Kinolon Direncinin İncelenmesi.....	57
3.8.3.1. Kinolon Direncini Belirleyen Bölgenin (QRDR) gösterilmesi.....	57
3.8.3.2. Genomik Kinolon Direncinin İncelenmesi	57
3.8.3.3. Plazmid Aracılı Kinolon Direncinin İncelenmesi.....	58
3.8.4. Sekans Analizi	578
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	59
4. BULGULAR	60
4.1. Fenotipik Test Sonuçları	60
4.2. Multipleks PZR Sonuçları	61
4.3. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları	62
4.4. Genomik Tetrasiklin Direnç Durumunun İncelenmesi	69
4.5. Makrolid Direnç Durumunun İncelenmesi.....	69
4.6. Kinolon Direncini Belirleyen Bölgenin (QRDR) Gösterilmesi	70
4.7. Genomik Kinolon Direncinin İncelenmesi.....	71
4.8. Plazmid Aracılı Kinolon Direncinin İncelenmesi	72
4.9. Plazmid Aracılı Tetrasiklin Direnç Durumunun İncelenmesi	72
4.10. DNA Sekans Analizi Sonuçları.....	73
4.10.1. Kinolon Direnci Sekans Sonuçları	73
4.10.2. Makrolid Direnci Sekans Sonuçları.....	74
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	76
6. KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ.....	117

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1.	Güncellenmiş haliyle kampilobakter türleri, alt tür ve biovarları	6
Tablo 2.2.	Kampilobakter genusunda bulunan türlerin biyokimyasal özellikleri.....	11
Tablo 2.3.	Kampilobakter türlerinin üretilmesinde kullanılan besiyerleri.....	14
Tablo 2.4.	Antibiyotiklerin etki mekanizması	31
Tablo 3.1.	Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde tavuk eti örneğinin türü ve sayısı	41
Tablo 3.2.	Kampilobakter türlerinin izolasyonunda kullanılan besiyeri ve supplement	42
Tablo 3.3.	<i>Campylobacter</i> Blood-Free Selective Agar Base içeriği.....	42
Tablo 3.4.	Blood Agar Base No: 2 içeriği	43
Tablo 3.5.	Brucella Broth içeriği	44
Tablo 3.6.	Triple Sugar Iron Agar içeriği	45
Tablo 3.7.	mPZR işleminde kullanılan sarf malzeme listesi	46
Tablo 3.8.	PZR İşleminde kullanılan primer çiftleri ve beklenen bant büyüklükleri.....	46
Tablo 4.1.	Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde alınan örneklerden <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon sonuçları	60
Tablo 4.2.	Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (mPZR) ile identifikasyon sonuçları.....	61
Tablo 4.3.	Antibiyotik duyarlılık test sonuçları	63
Tablo 4.4.	<i>C. jejuni</i> izolatlarının çoklu antibiyotik direnç durumu	65
Tablo 4.5.	Haziran 2012 dönemi <i>C. jejuni</i> izolatlarına ait MİK değerleri ve dağılımı	67
Tablo 4.6.	Ocak 2013 dönemi <i>C. jejuni</i> izolatlarına ait MİK değerleri ve dağılımı	68
Tablo 4.7.	Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait genomik <i>tetO</i> geni PZR sonuçları.....	69
Tablo 4.8.	Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait makrolid direnci PZR sonuçları.....	70

Tablo 4.9. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde QRDR'nin gösterilmesi	71
Tablo 4.10. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait genomik kinolon direnci PZR sonuçları.....	72
Tablo 4.11. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait plazmid <i>tetO</i> geni PZR sonuçları.....	73
Tablo 4.12. Kinolon dirençli izolatlardaki sekans analizinin değerlendirme tablosu	74
Tablo 4.13. Makrolid dirençli izolatlardaki sekans analizinin değerlendirme tablosu ..	75

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Proteobacteria 16SrRNA gen ağacı ve sınıfları	5
Şekil 2.2.	<i>Campylobacter jejuni</i> , Gram negatif kıvrımlı çomakların renkli tarayıcılu elektron mikroskoptaki görüntüsü (1µm çapındaki bölge)	7
Şekil 2.3.	Kampilobakter türlerinin üremesi için gerekli mikroaerobik ortam	12
Şekil 2.4.	mCCD agarda <i>Campylobacter</i> spp. şüpheli kolonilerin görünümü	26
Şekil 3.1.	Kanlı agarda yapılan E-test yöntemi ve oluşan eliptik inhibisyon zonu	55
Şekil 4.1.	Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait identifikasyon grafikleri	61
Şekil 4.2.	<i>Campylobacter</i> spp. izolatlarının mPZR sonuçlarının % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü	62
Şekil 4.3.	Kanlı agarda yapılan disk difüzyon testi ve oluşan inhibisyon zonu	64
Şekil 4.4.	<i>C. jejuni</i> izolatlarında gözlenen çoklu antibiyotik direnç grafiği	66
Şekil 4.5.	Genomik tetrasiklin direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü	69
Şekil 4.6.	Makrolid direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü	70
Şekil 4.7.	QRDR'nin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü	71
Şekil 4.8.	Genomik kinolon direncinin % 2'lik agaroz jeldeki görüntüsü	72
Şekil 4.9.	Plazmid aracılı tetrasiklin direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü ...	73

KISALTMALAR

Aa-tRNA	: Aminoasil-tRNA
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AZM	: Azitromisin
Bp	: Baz çifti
Bv	: Biovar
Caco-2	: Laboratuarlar çalışmalarda kullanılan özel hücre hattı
CadF	: Fibronektin bağlama proteini
cAMP	: Siklik adenosin mono fosfat
CapA-B	: Ototransporter protein (Adezin)
CDT	: Sitoletal Distending Toksin
CetA- B	: Kemotaktik protein
CeuE	: Demir bağlama geni
CgtB	: Guillain-Barre Sendromunda gangliozidlerin taklidinden sorumlu gen
CheV- Y	: Kemotaktik protein
CIP	: Siprofloksasin
CiaB	: İnvazyon proteini
CLSI	: Clinical and Laboratory Standart Institute
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DnaJ	: Kolonizasyondan sorumlu gen
DO	: Doksisisiklin
E	: Eritromisin
ENR	: Enrofloksasin
FBP	: Demir bağlayan protein
flaA	: Flagellin A proteini

G	: Gravity
GBS	: Guillain-Barré Sendromu
glyA	: Serine hydroxymethyltransferase
gryA	: Kinolon direncine neden olan DNA giraz enziminin kodlandığı gen
FspA	: Flagelladan sentezlenen protein
HE	: Hektoen Enteric Agar
HeLa	: Laboratuvar çalışmalarında kullanılan özel hücre hattı
HipO	: Hippurikaz enzimini salgılatan gen
ISO	: International Organization for Standardization
İam	: İnvazyon ilişkili belirleyici gen
İle	: İzolösin amino asiti
JlpA	: <i>C. jejuni</i> 'nin yüzey lipoproteini
KIA	: Kligler's Iron Agar
kGy	: Bir kilogramlık madde tarafından soğurulan 1 Joule'lük enerji
KPS	: Kapsüler polisakkarit
LEV	: Levofloksasin
LOS	: Lipooligosakkarit
LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Labil toksin
MAMA-PZR : Mismatch Amplification Mutation Assay Polimeraz Zincir Reaksiyonu	
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
mCCDA	: Modifiye Charcoal Cephoperazone Desoxycholate Agar
MHA	: Mueller Hinton Agar
MFS	: Miller-Fisher Sendromu
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MLS	: Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin

mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
mPZR	: Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MUC2	: Musin
mws/cm²	: Enerji dozunu ölçen birim
NA	: Nalidiksik asit
Ng	:nanogram
OMP	: Dış membran proteinleri
T	: Oksitetrasiklin
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PEB1	: Periplazmik bağlayıcı protein
PFGE	: Pulsed Field Gel Electrophoresis
PldA	: Hücresel invazyonla ilişkili gen
PorA	: Dış membran proteini
PVir	: Adezyon ve invazyondan sorumlu plazmid
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qnr	:Plazmid aracılı kinolon direncinin kodlandığı gen
QRDR	: Quinolone Resistance Determining Region, Kinolon direncini belirleyen bölge
RacR	: Kolonizasyondan sorumlu gen
RNA	: Ribonükleik Asit
Rpm	: Revolutions per minute
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SrRNA	: Small Ribozomal Ribonükleik Asit
SS	: <i>Salmonella Shigella</i> Agar
ST	: Stabil toksin

Subsp	: Alt tür
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i> polimeraz enzimi
TBE	: Tris-Borik asit – etilendiamin tetra asetik asit
TCA	: Tri karboksilik asit
TE	: Tetrasiklin
TetO	: Tetrasiklin direncinden sorumlu gen
Tre	: Treonin aminoasiti
TSI	: Triple Sugar Iron Agar
TY	: Tilosin
vb	: ve benzerleri
VBNC	: Canlı fakat kültüre edilemeyen
VirB11	: Hücresel invazyonla ilişkili gen
WlaN	: Guillain-Barre Sendromunda gangliozidlerin taklidinden sorumlu gen
X^2	: Kikare sembolü
XLD	: Xylose Lysine Desoxycholate Agar
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kampilobakter türleri, *Eubacteria* grubuna bağlı *Protobacteria* sınıfındaki rRNA Süperfamilya VI içinde yer alan *Campylobacteriaceae* ailesinin bir üyesidir (1). Termofilik kampilobakterler, bu cins içerisinde yer alan insanlar ve birçok hayvan türünde bulunan mikroorganizmalardır. Bu grup etkenler içerisinde en sık rastlanan tür *Campylobacter jejuni*, daha az olarak *Campylobacter coli* ve en az da *Campylobacter lari* bulunmaktadır (2).

C. jejuni, daha çok kuşları, kanatlıları, kedileri ve köpekleri içeren çok sayıda vahşi ve evcil hayvanın barsaklarında kommensal olarak bulunmaktadır. Etken, koyunlarda ve sığırlarda steriliteye ve abortlara neden olmaktadır (3, 4). *C.jejuni* insanlarda ise; ishal, ateş ve karın ağrısı v.b. semptomlarla karakterize akut enfeksiyona yol açar. Buna ilaveten *C.jejuni*, reaktif artrit ile Miller-Fisher ve Guillain-Barre sendromlarını da kapsayan nörolojik komplikasyonlara neden olmaktadır (5-7).

İnsanlarda gözlenen *C. jejuni* kaynaklı kampilobakteriyozis, tüm dünyada yaygın olarak görülen zoonotik bir enfeksiyondur (8, 9). Etken, kanatlıların dışkıları ile kontamine olmuş et, süt ve içme sularının tüketilmesi ile veya kontamine ürünlerle direkt temas sonucu insanlara bulaşmaktadır (10, 11). Kanatlı etleri, insan enfeksiyonlarının en önemli kaynağını oluşturmaktadır (3, 12, 13). Özellikle 90'lı yıllardan itibaren, gelişmiş ülkelerde, insanlardaki *C. jejuni* kaynaklı enfeksiyonlara, *Salmonella* ve *Shigella* enfeksiyonlarından daha sık rastlanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, gelişmiş ülkelerde kampilobakter türlerinin neden olduğu gastroenteritlerin % 90'ından *C. jejuni*, % 5-10'undan da *C. coli*'nin sorumlu olduğu bildirilmektedir (14). İnsanlardaki *C.*

jejuni enfeksiyonları, özellikle Mayıs, Haziran ve Temmuz gibi sıcak ve nemli aylarda en yüksek seviyededir (15). Enfeksiyonun seyrinde görülen bu artışın nedenlerinin; etkenin iklim şartlarına uyum sağlaması, yaz aylarındaki gıda tüketim alışkanlıkları, kuş hareketleri ve turizmde görülen hareketlilik olduğu bildirilmiştir (16). Etkenin, olumsuz çevre koşullarından daha iyi koşullara aktarılmasını sağlayan ve bu sayede canlı kalmasında rol oynayan özellikleri bulunmaktadır (17). *C. jejuni*; bu şekilde başta kanatlı karkasları olmak üzere, diğer gıdalarda da canlılıklarını devam ettirerek çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir (18).

İnsanlarda *C. jejuni* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde, eritromisin en çok tercih edilen ilaçtır. Bununla birlikte; siprofloksasin, enterik patojenlere karşı sıklıkla kullanılan ve geniş spektrumlu etki gösteren antibiyotiklerdendir. Sistemik enfeksiyon vakalarında gentamisin ve tetrasiklinler kullanılmaktadır. Ancak, antimikrobiyallerin kampilobakteriyozise karşı klinikte ve evcil hayvanlarda gelişmeyi artırıcı olarak kullanılması, direnç gelişimine yol açmaktadır (19, 20). Bu sebeple, son yıllarda özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, *C. jejuni* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan kinolon ve makrolid grubu antibiyotiklere dirençlilik, önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (8, 19). Tavuk karkaslarından izole edilen *C. jejuni* izolatlarının gerek beşeri ve gerekse veteriner hekimlik alanında kullanılan genel antibiyotiklere dirençli olduğunun gözlenmesi, *C. jejuni*'lerin insanlar için yarattığı tehlikenin boyutlarını göz önüne getirmektedir (21).

Bu çalışmada;

Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde, Kayseri Şehir merkezinde bulunan farklı satış noktalarında taze olarak tüketime sunulan broiler karkaslarından *Campylobacter jejuni* izolasyonu ve izolatların makrolid, kinolon ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç durumlarının fenotipik (Disk difüzyon testi ve E-test) ve genotipik yöntemler ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

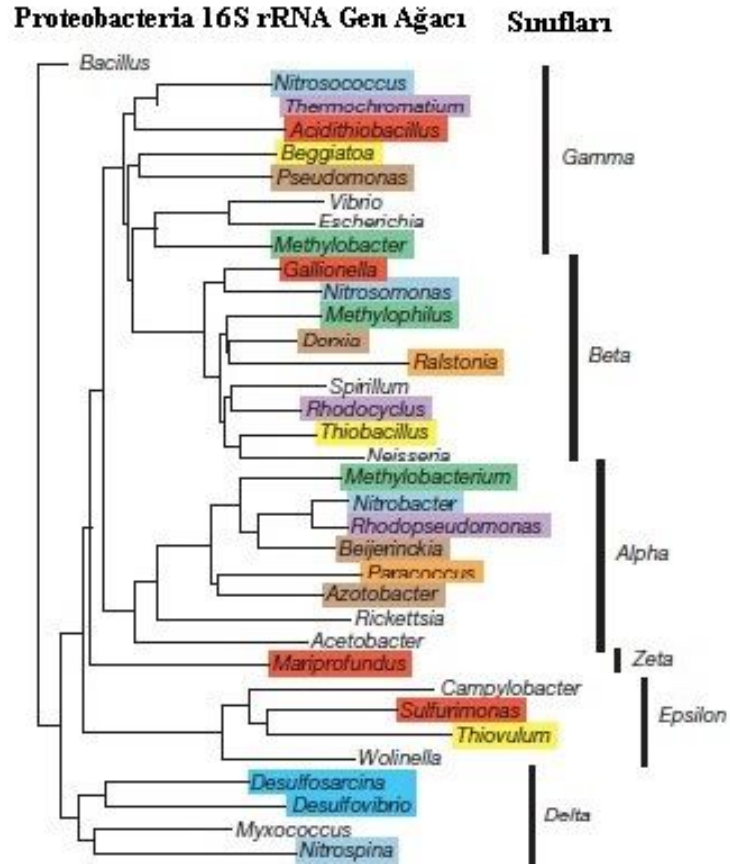
2. GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE ve TAKSONOMİ

Kampilobakterler, ilk olarak “Theodor Escherich” tarafından 1886 yılında ishalli bir çocuk dışkılarından mikroskopik olarak tanımlanmıştır (22, 23). Etken, önceleri insanlarda kolera hastalığının etkeni ile aynı grup altında değerlendirilerek, “vibrio” cins ismi ile adlandırılmıştır (24, 25). McFaydean ve Stockman, 1913 yılında atık koyun fetus dokularından “*Vibrio benzeri*” olarak isimlendirdiği bakteriyi izole etmişlerdir (26). Daha sonra Theobald ve Smith, 1919’da yavru atan ineklerden izole ettikleri bakterilere “*Vibrio fetus*” adını vermişlerdir. Jones ve arkadaşları 1931’de, bu etkenin enterik enfeksiyonlara da neden olduğunu bildirmiş ve jejunumdaki patolojik bulgulardan dolayı etkeni “*Vibrio jejuni*” olarak tanımlamışlardır. Doyle ise 1944 yılında domuz dizanterisi etkeni olarak izole ettiği mikroaerofilik vibrioları “*Vibrio coli*” olarak adlandırmıştır. King, 1957’de serolojik ve biyokimyasal özellikleri farklı iki grup *V. fetus* tanımlamış ve 42° C’de iyi üremiş olanlarına “related vibrio” adını vermiştir (27, 28). Ancak, daha sonra bu mikroorganizmanın; üremeleri, metabolizmaları ve DNA baz homolojileri bakımından farklı özelliklere sahip oldukları saptanmış ve bu mikroaerofilik mikroorganizmalar için “*Campylobacter*” ismi önerilmiştir (24). Yunanca kökenli bu isim, *kampulos*: kıvrık, *bakter*: çubuk şekilli bakteri kelimelerinden oluşmaktaydı (22).

1973 yılında, Veron ve Chatelain; Kampilobakterlerin, vibriolardan farklı bir tür olduğunu ve bu mikroorganizmaların fenotipik özelliklerine göre *Spirillaceae* familyasında *C. fetus* ve *C. bubulus* olarak adlandırılan iki cinse sahip olduğunu

bildirmişlerdir (29). Daha sonra bu mikroaerofilik organizmalar üzerine yapılan detaylı çalışmalarla önceden *V. jejuni* ve *V. coli* olarak isimlendirilen iki tür de *C. jejuni* ve *C. coli* ismi ile Kampilobakter cinsi içerisine dahil edilmiştir (25). 1980'lerin başında yeni izolasyon metotlarının geliştirilmesiyle Kampilobakterlere olan ilgi, yeniden artmaya başlamıştır. Bunun sonucunda “Kampilobakter benzeri organizmalar”; insan, hayvan ve çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilmeye ve yeni türler de identifiye edilmeye başlanmıştır (25, 30, 31). Kampilobakter benzeri organizmaların identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testlerin etkinliğinin az olması ve ayırt edici özelliklerin yetersiz olması nedeniyle, birbirinden bağımsız bakterilerin isimlendirilmesinde çok sayıda yerel isim ortaya çıkmış ve bunların bir kısmı daha sonra yeni tür olarak literatürde yer almasına rağmen, birçoğu da iyi bilinen türlerin biyokimyasal varyantı olarak tanımlanmıştır (25). Nihayet, 1991 yılında kampilobakterler, kampilobakterlerle ilişkili diğer bakteriler ve isimlendirilemeyen kampilobakter benzeri mikroorganizmalar; DNA-RNA hibridizasyon yöntemi, 16S ribozomal RNA sekans analizleri ve immün tiplendirme teknikleri kullanılarak *Proteobacteria* takımı (Şekil 2.1) içerisinde "rDNA süper aile VI" adlı yeni bir filogenetik gruba dahil edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda kampilobakterlerin oldukça heterojen oldukları ve üç farklı RNA homoloji hattına sahip oldukları görülmüştür. RNA homoloji I'de, gerçek *Campylobacter* ve *Bacteroides ureolyticus*; rDNA homoloji II'de, *Arcobacter* cinsi; rDNA homoloji III'de, *Helicobacter* cinsi ve *Wolinella succinogenes* yer almaktadır. rDNA homoloji grup I ve II içerisindeki bakteriler, filogenetik olarak yakın ilişkili olduklarından *Campylobacteraceae* familyası içerisinde yer almaktadır (1, 25). Bu çalışmalar sonucunda daha önceden *Wolinella curva*, *Wolinella recta* ve *Bacillus gracilis* olarak isimlendirilen bakteriler *Campylobacter curvus*, *Campylobacter rectus* ve *Campylobacter gracilis* olarak adlandırılmış, *Bacillus ureolyticus*'un ismi ise değiştirilmemiştir (25).



Şekil 2.1. Proteobacteria 16SrRNA gen ağacı ve sınıfları (32).

Sonuç olarak; 2007 yılında yapılan çalışmalarda, *Campylobacteriaceae* familyasında *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* cinslerinin bulunduğu ve Kampilobakter Genusunda 6 alt tür ve 2 biovar olmak üzere toplam 18 türün yer aldığı, ortaya konmuştur. Bunlar; *C. coli*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *venerealis*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii*, *C. hyoilei*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum* bv. *Sputorum*, *C. sputorum* bv. *Faecalis*, *C. upsaliensis*, *C. insulaenigrae*, *C. lanienae* ve *C. hominis*'dir (Tablo 2.1) (8, 25, 33-36). Ayrıca, son yıllarda *Campylobacter canadensis* sp. nov. (37), *Campylobacter peloridis* sp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *concheus* subsp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *lari* subsp. nov. (38), *Campylobacter cuniculorum* sp. nov., (39), *Campylobacter subantarcticus* sp. nov. (40), ve *Campylobacter avium* sp. nov. (41) gibi yeni türlerin de varlığı bildirilmektedir.

Tablo 2.1. Güncellenmiş haliyle kampilobakter türleri, alt tür ve biovarları (22).

Türler	Alt tür/ Biovar
<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Campylobacter concisus</i>	
<i>Campylobacter curvus</i>	
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>veneralis</i>
	<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	
<i>Campylobacter helveticus</i>	
<i>Campylobacter hominis</i>	
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>
	<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>
<i>Campylobacter insulaenigrae</i>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>
	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>
<i>Campylobacter lanienae</i>	
<i>Campylobacter lari</i>	
<i>Campylobacter mucosalis</i>	
<i>Campylobacter rectus</i>	
<i>Campylobacter showae</i>	
<i>Campylobacter sputorum</i>	<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>Sputorum</i>
	<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>Fecalis</i>
	<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>Paraureolyticus</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	
* <i>Campylobacter hyoilei</i>	

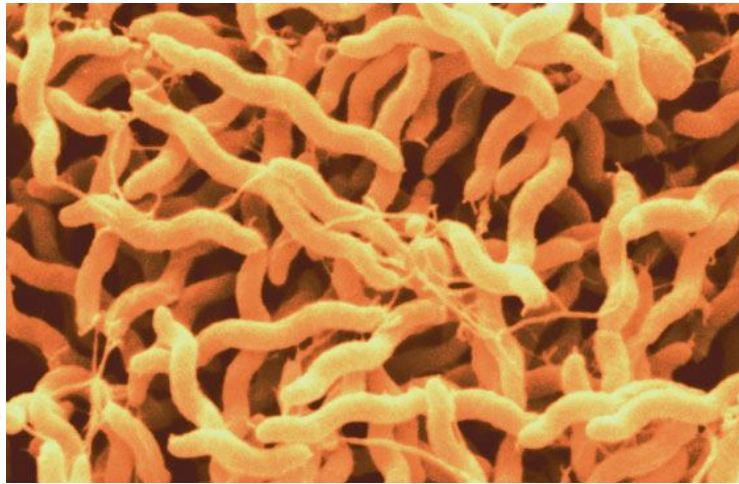
*: Tabloya sonradan ilave edilmiştir.

2.2. KAMPILOBAKTERLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

2.2.1. Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

Kampilobakterler, “S” ya da spiral şeklinde bir ya da daha fazla kıvrımlı (Şekil 2.2), helikal, mikroaerofilik, bir ya da her iki kutbunda yer alan birer flagella ile aktif hareketli, Gram negatif çomakçıklardır (3, 4, 42). Son yıllarda insanlarda gıda kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların ve gıda zehirlenmelerinin en sık rastlanan nedenlerinden biri olarak kampilobakter türlerinin önemleri oldukça artmıştır (3, 32). Üretimleri ve

identifikasyonları oldukça zahmetli bakterilerdir. Farklı üreme gereksinimlerinden dolayı bu gruptaki bakterileri tanımlamak için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir (42). Kampilobakterler, mikroaerofilik (% 3-5 CO₂), aerobik ya da anaerobik, oksidaz pozitif, karbonhidratları kullanmayan mikroorganizmalardır (4). *Campylobacter fetus* (iki alt türü ile birlikte), *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* insanlar ve hayvanlar için patojendir (4, 32). Bununla birlikte kampilobakterler, memeliler, kanatlılar ve sürüngenleri kapsayan birçok hayvanın normal barsak florasının bir parçası olarak rol oynamakta ve coğrafik olarak da geniş bir yayılım göstermektedirler (3, 9, 43). İnsanlarda *C. jejuni* enfeksiyonlarını, Guillain-Barre sendromu (GBS), periferik sinirlerin akut hastalığı ve reaktif artrit gibi infeksiyöz olmayan komplikasyonlar takip edebilir (7). Kanatlılar, kampilobakter kaynağı olarak sporadik insan ve hayvan salgınlarından sorumludurlar (3). Bulaşma, enfekte hayvan dışkıyla kontamine olmuş gıdalar ve suyun oral yolla alınmasıyla şekillenir (7). Kampilobakterler, ısıya duyarlı, pastörizasyonla yıkımlanan ve asitli yiyeceklerde hayatta kalamayan canlılardır. Bu nedenle, gıdaların yeterince pişirilmesi ve yeniden kontamine olmasının önlenmesi, kontrol açısından önemlidir (3).



Şekil 2.2. *Campylobacter jejuni*, Gram negatif kıvrımlı çomakların renkli tarayıcı elektron mikroskoptaki görüntüsü (1µm çapındaki bölge) (32).

Son yıllarda sekanslama tekniklerinin de gelişmesiyle, Kampilobakterlerin genomik özellikleri incelenmiş, buna bağlı olarak da kampilobakterlerin metabolik ve fizyolojik özelliklerine yönelik çalışmalar artmaya başlamıştır (44). Kampilobakterler, çok ince bir morfolojiye sahip oldukları için 0,65 ve 0,45 µm çapındaki filtrelerden geçebilirler.

Kampilobakter türlerinin çoğunda tek kutupta ya da her iki kutupta birer flagella bulunur ve bu sayede aktif hareketlidirler (36, 45). Ancak, *Campylobacter gracilis* gibi hareketsiz veya *Campylobacter showae* gibi birden çok flagellaya sahip türler de bulunmaktadır (25). Kampilobakterlerin, taze preparatlarda faz-kontrast veya karanlık saha mikroskobunda tirbüşon benzeri "cork screw" hızlı hareketleri tipiktir (36). Flagella uzunluğunun, tüm bakteri uzunluğunun iki ya da üç katı olabilmesi nedeniyle kampilobakterler, yüksek derecede bir motiliteye sahiptirler (1). Kampilobakterlerin farklı morfolojik yapıları sayesinde mikroskop altında identifikasyonu oldukça kolaylaşmaktadır (22). Katı besiyerinde üretilen yeni kolonilerden hazırlanan preparatlarda, spiral veya flemantöz şekil daha belirgin iken; eskimiş kültürde veya yüksek oksijenli ortamda, sferik veya kokoid şekle (Dormand, VBNC-Viable but non-culturable) dönüşebilirler (25).

Mikroaerobik atmosferde inkübasyon sonunda kampilobakterler, düşük nem oranına sahip besiyerlerinde; mukoid, saydam, hemoliz yapmayan, granüler, küçük, düzgün şekillerde ve 1-2 mm çapında gri, kahverengi, gülkurusu gibi değişik renklerde koloniler oluştururlar. Yüksek nem oranına sahip besiyerlerinde ise, 10 mm'ye kadar ulaşabilen çapta, yaygın, basık, düzensiz kenarlı ve grimsi renkte koloniler meydana getirirler. Eskimiş kültürlerde koloniler dumanımsı ve parlak metalik görünümündedir (36, 46). Koloni morfolojileri türler arasında, hatta aynı tür içinde bile farklılık gösterebilir (36). *C. fetus*'un her iki alt türü küçük (1mm), yuvarlak, hafif yüksek, pürüzsüz, yarı saydam çiğ damlası görünümünde kolonilere sahipken; *C. jejuni* düzgün, gri renkte, *C. fetus*'un kolonilerinden büyük ve sulu görünümlü kolonilere sahiptir. Diğer kampilobakter türlerinin koloni görünimleri oldukça farklılıklar göstermektedir. *C. coli*, pembe-taba rengi pigment oluştururken; *C. mucosalis*, inokülasyon yapıldığı yer üzerinde kirli sarı renkte görünüm oluşturur (9).

Kampilobakterlerin fimbria veya pilusları yoktur ve aside dirençli olmadıkları için alkalen-metilen mavisi, kristal viyole ve karbol fuksinle iyi boyanırlar. Kampilobakterlere ait DNA'ların G+C oranı; termofilik türlerde % 30-36, diğer türlerde % 29-46'dır (1, 47).

Kampilobakterlerin hücre duvarı tipik olarak Gram negatif hücre duvarı özelliği taşımaktadır. Hücre duvarı dışta lipoprotein, ortada lipopolisakkarit ve içte mukopeptid

tabakadan oluşur. Glikolipitlerden oluşan lipopolisakkarit (LPS) ya da lipooligosakkarit (LOS) yapı, dış membranda yer alır. Bu tabaka kampilobakter türlerinin büyük yüzey antijenlerini içeren en önemli virülens özelliklerinden biridir (48). Kampilobakterlerde yer alan çeşitli LOS yapılarının ve flagellanın sili yapısının, insan nöronal gangliozydlerine benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (49). Bu moleküler benzerlikten dolayı kampilobakter enfeksiyonu sırasında bakterinin bu antijenik yapılarına karşı gelişen antikor cevabı, sinir hücresi myelin tabakasındaki gangliozyd reseptörlerinin tahribine sebep olur. Böylece, Guillain-Barre sendromu (GBS) ve Miller-Fisher sendromu olarak tanımlanan periferik sinir hücrelerinde myelin kaybına bağlı olarak gelişen nörolojik komplikasyonlar ortaya çıkar (50).

C. jejuni'de bulunan kapsüler polisakkarit (KPS), fosfolipid bağlanmış tekrarlayan oligosakkarit ünitelerinden oluşmaktadır. Ayrıca KPS yapısı, farklı *C. jejuni* izolatlarında değişkenlik gösterir ve bu da genetik bir temele dayanmaktadır. KPS; bakteriyi, (51) komplemanın membran atak kompleksinin etkilerinden, fagositik hücrelerin bağlanmasından ve bu hücrelerin sindirici etkilerinden koruyan (52), ayrıca, Kampilobakterlerin epitelial hücrelere adezyon ve invazyonunda rol oynayan (49) önemli bir virulans faktörüdür.

Genom sekansları ve DNA mikroarray verileri, *C. jejuni*'nin genomunun, kromozom üzerinde yaklaşık 22 adet değişken bölge içerdiğini göstermiştir. Kromozom üzerindeki en değişken bölgelerin hücre yüzeyindeki karbonhidrat yapıların biyosentezini gerçekleştiren bölgeler olduğu ve bunların tamamının virülenste rol oynadığı bildirilmiştir (49). Kampilobakter türlerinin genomik yapıları sekans analizi ile incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda *C. jejuni* subsp. *jejuni* NCTC 11168'nin 1,641,481 bp, *C. jejuni* subsp. *jejuni* 81-176'nın ise 1,616,554 bp uzunluğunda genoma sahip olduğu ortaya konmuştur (53). Kampilobakterlere ait kromozomun diğer bakterilerinkine oranla daha küçük olması nedeniyle, Kampilobakterlerin metabolik aktiviteleri daha yavaştır (54). Bundan dolayı, Kampilobakterlerin *in vitro* şartlarda adi besiyerlerinde üretilmeleri zordur. Üremenin sağlanması için besiyerine protein, yağ ve eser element kaynağı olarak % 7-10 oranında defibrine at, koyun veya insan kanı, B vitamin kompleksleri ve çeşitli supplementler ilave edilmektedir (36).

Kampilobakter türleri, mikraerofilik bakteriler olup *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* ve *C. lari*, insanlarda ve hayvanlarda sindirim sistemi florasında bulunan ve en sık rastlanan türlerdir. Bu türler; 42° C’de üreyebilme yeteneğine sahip olmaları nedeniyle “Termofilik kampilobakterler” olarak isimlendirilirler. Termofilik türlerin 35° C’nin altında üremeleri oldukça yavaşlamaktadır (55, 56). Bu sıcaklık derecesinin aynı zamanda rekabetçi floranın baskılanmasını sağladığı ileri sürülmektedir (56, 57).

2.2.2. Biyokimyasal Özellikleri

Kampilobakterler; metabolik olarak selenit indirgeyen, indol negatif, metil red ve Voges Proskauer negatif bakterilerdir ve jelatin ile üreyi hidrolize edemezler. Kampilobakterlerin lipaz aktiviteleri olmayıp, bu bakteriler, nitratı indirgerler, pigment oluşturmazlar ve yüksek miktarda sitokrom b ve c’ye sahiptirler (9, 33). *Campylobacter gracilis* dışında tüm kampilobakter türleri, oksidaz pozitif olup katalaz negatif ya da zayıf katalaz reaksiyonu gösteren *C. upsaliensis* hariç, tüm Kampilobakter türleri katalaz pozitifdir (9, 56, 58). Kampilobakterlerin fosfofruktokinaz enzimlerinin bulunmadığı bilinmektedir. Bu sebeple kampilobakterler, karbonhidratları oksidatif veya fermentatif yolla metabolize edemezler. Termofilik kampilobakter türleri, enerji gereksinimlerini glutamin, glutamik asit, asparjin ve aspartik asit gibi aminoasitlerin yıkımından, trikarboksilik asit siklusunun ara ürünlerinden, hidrojenin oksidasyonundan ve fumarattan sağlarlar (54).

Termofilik kampilobakter türlerinden sadece *C. jejuni*’nin sodyum hippuratı hidrolize ettiği, *C. coli*, *C. upsaliensis* ve *C. lari*’nin ise hippuratı hidrolize etmediği ve sadece *C. coli*’nin H₂S üretme yeteneğinin zayıf olduğu bildirilmiştir. *C. jejuni* ve *C. coli* nalidiksik aside duyarlı ancak sefolotine dirençlidir (56). *C. lari*, nalidiksik aside karşı dirençli olmasıyla diğer türlerden ayırt edilir (Tablo 2.2) (36, 56). Bununla birlikte *C. gracilis* anaerobik üreme ihtiyaçları, düzgün çubuk şekilli yapıları ve oksidaz negatif özellikleri sayesinde diğer kampilobakterlerden ayrılırlar (23).

Tablo 2.2. Kampilobakter genusunda bulunan türlerin biyokimyasal özellikleri (59).

İdentifikasyon testleri	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	<i>C. coli/C. jejuni</i> , hippurat negatif	<i>C. lari</i> ^a	<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. hyointestinalis</i>
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	V	+	+	+	0/W	+
35-37° C’de aerobik üreme	0	0	0	0	V ^b	0	0
25° C’de mikroaerobik üreme	0	0	0	0	V	0	V
35-37° C’de mikroaerobik üreme	+	+	+	+	+	+	+
42° C’de mikroaerobik üreme	+	V	+	+	V	+	+
Hippurat hidrolizi	+	+	0	0	0	0	0
İndoksil asetat	+	+	+	0	0	+	0
NA dirençli	0 ^c	0	0 ^c	+	+	0 ^c	+
SF dirençli	+	V	+	+	V	0	0
Nitrat redüksiyon	+	0	+	+	+	+	+
TSI agarda H ₂ S	0	0	V ^d	V	0	0	+
Üre hidrolizi	0	0	0	0	0	0	0

+: pozitif reaksiyon, 0: negatif reaksiyon, W: zayıf pozitif, V: değişken reaksiyon, NA: nalidiksik asit, SF: Sefalotin,

a: Üreaz pozitif termofilik kampilobakterler ya da *C. lari* benzeri türlerde bulunabilir.

b: Nadiren *C. fetus* subsp. *fetus* türleri aerobiktir.

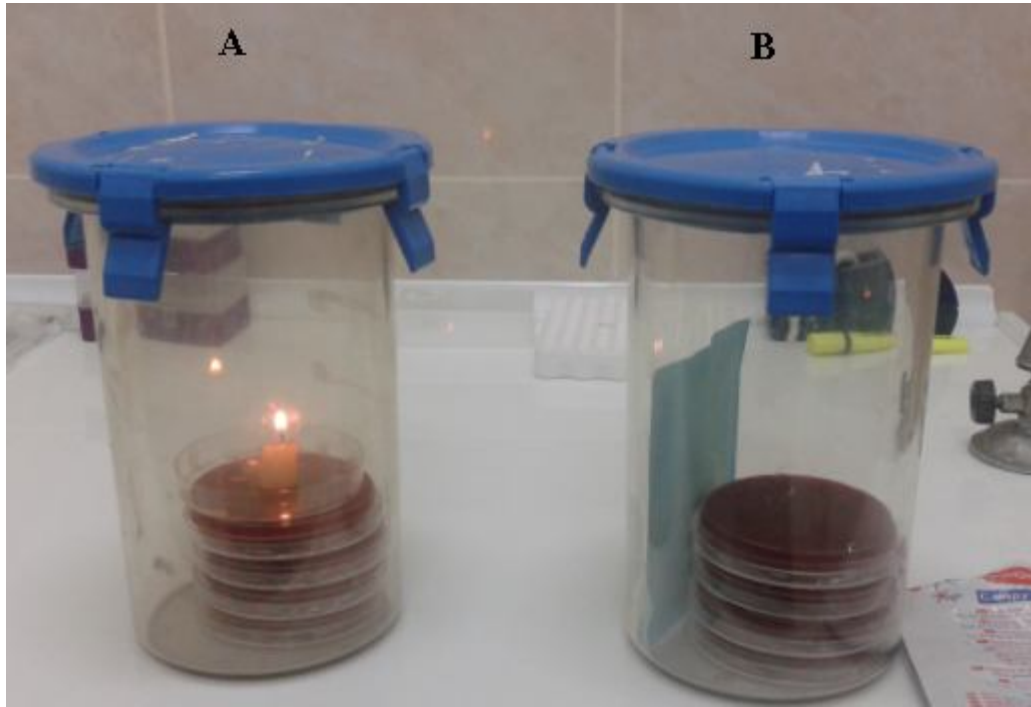
c: Bu türler önceleri NA’ya duyarlıydılar fakat kazanılmış florokinolon direncinden dolayı dirençli mikroorganizma oranları % 35’lere kadar yükselmiş, buna bağlı olarak da bu identifikasyon testi önemini kaybetmiştir.

d: TSI agarda H₂S varlığı *C. coli*’ye işaret eder.

2.2.3. Üreme ve Kültür Özellikleri

Ekim yapılmış petriler, termofilik kampilobakterlerin izolasyonu için 42–43° C’de mikroaerobik atmosferde inkube edilmelidir. Termofilik kampilobakterler bu sıcaklıktan etkilenmezken, normal fekal floranın gelişimi bu sayede inhibe edilmiş olacaktır (56, 57). Kampilobakter türlerinin çoğu; obligat mikroaerofilik bakteriler olup; üremelerinde % 10 CO₂, % 5 O₂ ve % 85 N₂’a gereksinim duyar ve en iyi 48-72 saatte

üerler (36, 56). Kampilobakterlerin optimum üreme şartlarının oluşması için gerekli atmosferdeki CO₂ miktarı her kampilobakter türü için farklıdır. Örneğin; ribonükleotid redüktaz enziminin aktivasyonu için, % 5-15 O₂ konsantrasyondaki oksijene ihtiyaç duyan *C. jejuni*, ortamdaki yüksek oksijen konsantrasyonu varlığında üreyemez. Buna karşılık *C. fetus*, *C. sputorum*, *C. concisus* ve *C. mucosalis* gibi bazı kampilobakter türleri, fumarat, aspartat veya nitrat gibi elektron akseptörlerinin varlığında, anaerop ortamda da üreyebilme yeteneğine sahiptirler (56). Kampilobakter türlerinin üremesi için uygun mikroaerobik ortam çeşitli yollarla gerçekleştirilir. Metodun seçimi laboratuvarın iş yüküne, büyüklüğüne ve en önemlisi maliyete bağlıdır (57). Mikroaerobik ortam; desikatör veya jar içerisine mum yerleştirilmesi (Şekil 2.3), anaerobik jarların havası alınıp yerine % 5 O₂, % 10 CO₂ ve % 85 N₂ gaz karışımlarının verilmesi, üçlü gaz inkubatörü, Campy-Pack, Campy-Gen v.b. gibi ticari olarak üretilen, kullanıma hazır, gaz oluşturan iyon zarflarının yerleştirilmesi veya ticari bir sistem olan anoksomat sistemi ile sağlanmaktadır (23).



Şekil 2.3. Kampilobakter türlerinin üremesi için gerekli mikroaerobik ortam (A: Mumla sağlanan mikroareobik ortam, B: Kitle sağlanan mikroareobik ortam)

C. sputorum, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. showae*, *C. rectus*, *C. gracilis*, ve *C. hominis* gibi bazı kampilobakter türleri, izolasyon ve üreme için yüksek oranda hidrojene ihtiyaç duymaktadırlar. Hidrojen gereksinimi olan bu türler için hidrojen oranı en az % 6-7 olmalıdır (23, 60).

Kampilobakterlerin izolasyonunda besiyerlerine, oksijenin kampilobakterler üzerine olan toksik etkisini azaltmak için, sıklıkla demir sülfat, sodyum metabisülfid ve sodyum pürivat katılır. Bu besiyerine, kampilobakterlerin dirençli oldukları antibiyotikler de ilave edilerek, örnekte bulunan bakteriyel ya da fungal flora baskılanmış olur. Bu özellikleri taşıyan modified charcoal cefoperazone desoxycholate agar (mCCDA) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (61). Fakat bu besiyerinin en önemli dezavantajı kampilobakter kolonilerinin besiyeri yüzeyine yapışması nedeniyle kolonilerin toplanmasının çok güç olmasıdır (62). Kampilobakterlerin üretilmesi amacıyla farklı antimikrobiyal madde içeren çok sayıda selektif besiyeri (Blaser, Butzler, Skirrow) bulunmaktadır (57). Kan içeren selektif besiyerlerinden olan Skirrow besiyeri 42° C'de kullanım için geliştirilmiş olup ve 37° C'de zayıf aktivite göstermektedir (23). Kampilobakter türlerinin izolasyonunda; en iyi zenginleştirme besiyeri Bolton broth olmakla birlikte, Preston broth, Park ve Sanders gibi diğer sıvı besiyerleri ve tamponlanmış peptonlu su da kullanılabilir (Tablo 2.3.). Stres altındaki veya zarar görmüş kampilobakterlerin yenilenmesi amacıyla Bolton broth zenginleştirici besiyerinde, 37° C'de 4-6 saat inkubasyonda tutulmaları önerilmektedir (62).

Tablo 2.3. Kampilobakter türlerinin üretilmesinde kullanılan besiyerleri

Besiyeri Adı	Besiyeri içeriği	Kaynak
Blaser	Blood Agar Base No: 2, % 5 lize at kanı, 15 mg/l sefalotin, 2500 IU/I Polimiksin, 5 mg/l Trimetoprim, 10 mg/l Vankomisin, 2 mg/l Amfoterisin	63
Butzler	Blood Agar Base No: 2, % 5 lize at kanı, 25 000 Basitrasin IU/I, Sefazolin 15 mg/l, Kolistin 10000 IU/I, Novobiyosin 5 mg/l, Sikloheksimid 50 mg/l	63
Campy BAP	Brucella agar, % 10 koyun kanı, 5 mg trimetoprim, 10 mg vankomisin, 2500 IU polimiksin B, 2 mg ampfoterisin B, 15 mg sefalotin	23
Campy Sefex	Brucella agar 43 g, 0.5 g demir sülfat, 0.2 g sodyum bisulfit, 0.5 g pirüvik asid, 33 mg sodyum sefaperazon, 0.2 g sodyum sikloheksimid, 50 mL lize at kanı	61
Campy Line	Brucella agar 43 g, 0.5 g demir sülfat, 0.2 g sodyum bisulfit, sodyum pirüvat 0.5 g, alfa-ketoglutarik asid b 1 g, sodium karbonat b 0.6 g, Hemin b 10 mg, polimiksin B sülfat 0.35 mg, trimetoprim 5 mg, vankomisin 10 mg, sikloheksimid 100 mg, sefaeazon 33 mg, trifeniltetrazolyum klorid b 200 mg	64
Karmali	Columbia Agar, Charcoal/Na, pirüvat + hematin, 30 mg Vankomisin, 12 mg amfoterisin B/ 100 mg sikloheksimid, 52 mg sefaperazon	23
Modified Charcoal Desoxycholate Agar	Nutrient Agar, Charcoal/Na, pirüvat + demir sülfat, amfoterisin B 10 mg, sefaperazon 32 mg,	23
Preston	Nutrient broth No:2 %1-2 Yeni Zelanda agar'ın içinde, % 5 lize at kanı, Polimiksin 5000 IU/I, Rifampin 10 mg/l, Trimetoprim 10 mg/l, Sikloheksimid 100 mg/l	63
Skirrow	Blood Agar Base No: 2, % 5 at kanı, 25 00 IU/ml polimiksin B, 2500 IU/I Polimiksin, 5 mg/l Trimetoprim, 10 mg/l Vankomisin, Sikloheksimid 100 mg/l	63
Bolton Broth	Et peptonu 10,0 g/L ; Laktalbumin hidrolizat 5,0 g/L ; maya ekstraktı 5,0 g/L ; NaCl 5,0 g/L ; a-ketoglutarik asid 1,0 g/L; Sodyum piruvat 0,5 g/L ; Sodyum metabisulfit 0,5 g/L; Na2CO3 0,6 g/L ; Hemin 0,01 g/L	65
Preston Broth	Nutrient broth No 2 %1-2 Yeni Zealand agar içinde, %5 saponinle lize edilmiş at kanı, 5 IU/ml polimiksin, 10µg/ml rifampin, 10µg/ml trimetoprim, 100 µg/ml aktidiyon.	66
Park ve Sanders	Temel besiyeri, 25 mg vankomisin, 25 mg trimetoprim, 50 ml lize at kanı, 32 mg sefaperozon, 100 mg sikloheksimid	67

Kampilobakter türlerinin izolasyonunu ve üremesini etkilemeden kontaminantların gelişimini engellemek amacıyla besiyerine karışım olarak % 5-10 koyun kanı içeren sefalosporin (15mg/ml), vankomisin (10mg/ml), amfoterisin B (2mg/ml) ve % 0.05 demir sülfat-sodyum metabisülfid-sodyum pürivat (FBP) eklenmektedir (57). Ayrıca sefoperazon (32 mg/L), trimetoprim (10 mg/L) ve vankomisin (10 mg/L), besiyerlerine katılan bir başka kombinasyondur (62).

Kampilobakter türlerinin izolasyonu amacıyla kan veya kömür, kampilobakterlerin gelişmesi için gerekli mikroaerobik ortamı yaratmak ve oksijen gerilimini azaltmak için besiyerine katılmaktadır. Kompozisyonlarına kan ya da kömür ilave edilmeden bu amaç için geliştirilmiş besiyerleri bulunmaktadır. Fakat bu durum besiyerlerinin etkinliğini azaltmaktadır (62).

Canlı fakat kültüre edilemeyen form (Viable But Not Culturable); *C. jejuni* hücrelerinin bu formu ilk defa Rollins ve Colwell tarafından tanımlanmıştır (49). Buna göre *C. jejuni* normal şartlarda kültüre edilebilmesine karşın, olumsuz koşullarda (besin yetersizliği, yüksek ya da düşük sıcaklık derecesi, aerobik ortam, kültürün eskimesi, antibiyotiklerin varlığında), mikroskopta kokoid şekilde görülen canlı fakat kültüre edilemeyen bir forma dönüşmektedir (68). *C. jejuni* çevreye adaptasyonunu sağlayan VBNC formuna, *C. coli*'ye göre daha hızlı dönüşmektedir. Kültür plağındaki kampilobakterlerin tümünün VBNC formuna dönüşünce, tekrar pasajlandıklarında üremedikleri görülür. Ancak, VBNC formunda organizmaya alınan *C. jejuni*'nin barsaklara ulaştıktan sonra tekrar kültüre edilebilir hale geldiği, adezyon ve enteropatojenite özelliğini yeniden kazandığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (22, 68). VBNC formundaki bakteriler, metabolik aktivitelerini sürdürdükleri için gıda kaynaklı enfeksiyonlarda risk kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, VBNC formuna geçen bakterilerden kaynaklanan, gıda enfeksiyonları bildirilmemiştir (69). Gıdalarda tespit edilen VNBC'lerin geri dönüşüp dönüşmedikleri ve halk sağlığı açısından önemleri halen tartışmalıdır (49).

2.2.4. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Duyarlılık

Kampilobakterlerin üremeleri genellikle yavaş olmakla birlikte aminoasitli ortamda karbonhidratlı ortama göre daha iyi üredikleri görülmektedir. Ayrıca, kampilobakterler ortamda diğer bakteriler bulunduğunda onlarla yarışamaz (70). Örneğin, *Lactobacillus salivarius* bakterilerinin ortama saldıkları bakteriyozinlerin, kanatlılarda kampilobakter taşıyıcılığını azalttığı bildirilmiştir (22). Kampilobakterler, birçok gıdada genel olarak gelişemez ve oksijen (havadaki), tuz yoğunluğu (% 2,5'in üstünde), düşük pH (pH 5,0), sıcaklık (30° C'den aşağı), ısı (pastörizasyon) ve kuruma gibi pek çok çevresel etkene karşı duyarlıdır. Bununla birlikte kampilobakterlerin buzdolabı sıcaklığında canlılıklarını korudukları ve dondurulduğunda ise aylarca canlı kaldıkları belirtilmiştir (70). Kampilobakterlerin düşük ısıya duyarlı olmalarına rağmen doğal sularda uzun süre yaşayabilmelerinin bu sulardaki diğer fermentatif mikroorganizmaların ürünü olan format ve maleatı, solunumlarında substrat olarak kullanmalarına bağlı olduğu bildirilmiştir. Yüksek ısıya son derece duyarlı olan kampilobakterler katı ve sıvı gıdalar içerisinde 60° C de kısa sürede inaktif hale gelirler. Standart şartlarda klorlanan içme suyu ve pastörize edilmiş süt içerisindeki kampilobakterler hızla ölür (71). Yine kampilobakter kontaminasyonu, tuzlama, askorbik asit ilavesi veya ortamın oksijen bakımından zenginleştirilmesi ile azaltılır (22).

Kampilobakterler, makrolid ve kinolon grubu antibakteriyel ajanlara genellikle duyarlı iken; sefalotin, sefaperazon, sefazolin gibi sefalosporin grubu antibakteriyel ajanlarla trimethoprim karşı dirençlidirler. *C. lari*'nin nalidiksik asite karşı direnci fenotipik olarak, tanı koydurucu nitelikte olup; bu türün diğer termofilik türlerden ayırt edilmesinde kullanılmaktadır (72). Kampilobakterlerin gıda endüstrisinde kullanılan dezenfektanlara karşı oldukça duyarlı, ancak benzalkonyum klorür ve sodyum hipokloride karşı düşük oranlarda dirençli olduğu bildirilmiştir (22).

Kampilobakterler, iyonize radyasyona karşı oldukça duyarlıdır. Kampilobakterlerin eliminasyonu için gerekli radyasyon değerleri, *Salmonella* ve *E. coli* gibi enteropatojenleri elimine eden miktarlardan çok daha küçük seviyelerdedir. Bir kGy (Bir kilogramlık madde tarafından soğurulan 1 joule'lük enerji)'lik radyasyon değeri *Campylobacter* spp. enfeksiyonlarının önlenmesi ve canlı hücre sayısını önemli oranda

azaltılması için yeterlidir. Ayrıca kampilobakterler, ultraviyole ışığına *E. coli*'ye göre çok daha fazla duyarlılık (1,8'e karşı 5 mws/cm²) göstermektedir (22).

Kampilobakterler; çevresel strese duyarlı olmakla birlikte, pek çok bakteri gibi bu stres faktörlerinin öldürücü ya da gelişmeyi engelleyici etkilerinden kendilerini koruyacak olan (VBNC) formlara dönüşebilmektedir (73, 74).

2.2.5. Patogenez ve Virülens Faktörleri

Kampilobakterlerin organizmaya girişi; enfekte konakla direkt temas, hayvansal ürünlerin tüketimi veya yüzeysel suların hayvansal atıklarla teması sonucu gerçekleşmektedir (75). Kampilobakterlerin sindirim yoluyla alınmasından sonra etken, mide asidi bariyerini geçerse ince barsaklarda çoğalmaya başlar, epitelyuma yayılır ve inflamasyona neden olur (32, 49). *C. jejuni*'nin gastrik aside duyarlı olması nedeniyle, insanlarda enfeksiyonun oluşması için *C. jejuni* hücre sayısı 10⁴ kadar olmalıdır. Bununla birlikte; bakteri gıda ile birlikte alınmış ve tam olarak sindirilmemişse ya da mide asidi üretimini azaltan tedavi uygulanmışsa, enfeksiyonun oluşması için gereken *C. jejuni* hücre sayısı 500'den de az olabilir (32). *C. jejuni*'nin barsaklara tutunabilmesi için kemotaksis gerekmektedir. *C. jejuni* tavuk gastrointestinal sisteminde bulunan musin, L-serin, L-fukoz, aminoasitler; mukus komponentlerine ve CheY, CheV, CetA, CetB gibi kemotaktik maddelere karşı kemotaksis göstermektedir (49). Bunlar içerisinde barsaklardan salgılanan musin-2 (MUC2)'nin *C. jejuni* için çok önemli bir kemoatraktan olduğu ve bakterilerin buna bağlandığı bildirilmiştir (75). Kemotaktik maddelerin etkisi ve hareket özelliğiyle mukusu geçen kampilobakterler konak hücrelere bağlanırlar. Adezyonda çok sayıda protein rol oynamaktadır [major Outer Membran Protein (OMP), lipooligosakkarit, kapsüler oligosakkarit, fibronektin bağlama proteini (CadF), yüzey lipoprotein A (JlpA) ve periplazmik ABC bağlayıcı protein (PEB1), CapA ve CapB] (49). Ayrıca minör adezinler ve flagella, kampilobakterlerin epitel hücrelerine bağlanmasında aracılık eder. Aderens faktörleri, hücreden salgılanır fakat konak hücreye invazyon, bakteriye bağlı olarak şekillenir (75). İkinci aşamada *C. jejuni*, konak hücre tarafından endositozis yolu ile hücre içine alınır. *C. jejuni*, tarafından CiaB proteini sentez edilir ve konak hücre sitoplazmasına verilir. *C. jejuni* konak hücre içinde 72 saatten fazla kalır ve çoğalmaya devam eder. Hücre içinde bulunan bakteri sayısındaki artış, epitel hücrenin lizisine ve bu da bakterinin lamina

propria ve submukoza gibi daha derin dokulara göçüne neden olur. Derin dokulardaki yangı hücreleri, bakteriyi alır ve diğer organlara yayar. *C. jejuni*'nin hayatta kalması ve yayılması bakterinin özelliklerine ve antijen sunumuna olan direncine bağlıdır. Makrofaj içerisinde *C. jejuni*, solunum patlaması sonucu oluşan süperoksid, hidrojen peroksid ve halojenlenmiş oksijen molekülleri gibi maddeleri kapsayan çeşitli öldürme mekanizmalarıyla karşı karşıya kalır. *C. jejuni*, makrofaj içerisinde katalaz üreterek, hidrojen peroksidin öldürücü etkisini ortadan kaldırır (75). *C. jejuni*'de bulunan enterotoksin, adenilat siklazı aktive eden kolera toksinine benzer bir yapıdadır. Bu sayede barsak hücreleri arasında siklik-AMP seviyesinde artış görülür. Bu da diyare ile sonuçlanan barsak lümeninde sıvı toplanmasına ve su kaybına neden olur. Sitotoksin üretimi, lokal doku hasarı ve abse oluşmasına neden olur. Sonuçta klinik hastalık tablosu gelişir (4).

C. jejuni'nin virülensinde çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Bunlar *flaA*, *cadF*, *racR*, *dnaJ*, *virB11*, *ciaB*, *pldA*, *wlaN* (76), *cdtABC* (77), *iamA*, *cgtB* (78), *pVir* (79), *capA*, *porA*, *PEB1*, *jlpa* ve *FspA* (80) gibi moleküllerdir. Flagella *C. jejuni*'nin invazyonunda çok önemli rol oynamaktadır. *flaA* geni bulunmayan mutant *C. jejuni* izolatlarında invazyon yeteneğinde önemli derecede azalma görülmektedir (79).

CadF (*Campylobacter* adhesion to fibronectin); 37-kDa büyüklüğünde dış membran proteindir (81). *C. jejuni cadF* mutantlarının saha izolatlarına göre INT 407 hücrelerine invazyon ve bağlanma yeteneklerinde azalma görülmüştür (82, 83). Ayrıca *C. jejuni cadF* mutantları tavuklara kolonize olamamaktadır (80, 84). CapA hücre dışına salınan proteinlerin ototransporter ailesinin bir üyesidir. *cadF* mutasyonuna benzer şekilde *capA* mutantlarının Caco-2 hücrelerine aderensinde azalma görülmüştür ve tavuklara kolonize olamadığı bildirilmiştir (80, 85). *porA* geni *C. jejuni*'nin 43-kDa büyüklüğünde dış membrana yapısal stabilite kazandıran ve bakterinin dış membran bariyerinden hidrofilik moleküllerin geçişini kolaylaştıran büyük dış membran proteinlerini (major Outer Membran Protein, mOMP) kodlar (80, 86, 87). Proteinlerin önemli yapısal özellikleri ve transporttaki fonksiyonlarından dolayı *porA* mutasyonunun ölümcül etki gösterdiği bildirilmektedir. Bu nedenle *C. jejuni*'nin *porA* mutantları gösterilememiştir (80). PEB1 28-kDa büyüklüğünde bir proteindir. *Peb1A*'nın mutasyonu *C. jejuni*'nin HeLa hücrelerine aderensinde 50 ile 100 kat azalmaya neden olmaktadır (88, 89). *C. jejuni*'nin saha izolatları ile karşılaştırıldığında *C. jejuni*'nin *Peb1A* mutantlarının fare

bağırsak kolonizasyon süresinde azalmanın görüldüğü bildirilmiştir (80, 89). JlpA (*jejuni* lipoprotein A) *C. jejuni*'nin 43.2-kDa büyüklüğünde proteindir. HEp-2 hücrelerine aderens bakımından *jlpA* mutantlı *C. jejuni* izolatlarında saha izolatlarına göre nispeten %18 ile 19.4 oranında azalma görülmektedir (80, 90). Konak hücre ile ilişki sırasında, *C. jejuni* izolatları flagellar tip 3 sekresyon sistemini kullanarak bir grup protein sentezler ve salgılar. Epitel hücrelerine CiaB (*Campylobacter* invazyon antijen B) ve FspA (Flagellar secreted protein A) proteinlerinin gönderilmesiyle *C. jejuni*'nin iki işlevi; hücre hareket ve virülens proteinlerinin salgınması yerine getirilir (80). PVir plazmidi invitro olarak *C. jejuni*'nin adhezyon ve invazyon yeteneği ile ilişkidir. Bakterinin invivo olarak virülensini artırdığı bildirilmiştir (91). Tracz ve ark. (92)'nin bildirdiğine göre pVir'in sadece dizanterik fenotipe sahip oldukça invaziv enfeksiyonlara neden olan etkenlerden tespit edilmektedir (79, 92). RacR ve dnaJ genleri *C. jejuni*'nin kolonizasyonundan sorumludur ve insan barsağı ve rezervuar çevreler arasındaki sıcaklık farkları gibi barsaklarda zorlu şartlarla başa çıkmak için salgılanmaktadır (79, 93, 94). VirB11 ve PldA genleri hücre invazyonu ile ilişkili olup (78) dış membran fosfolipazlarının sentezine katılan proteinleri kodlamaktadır (79, 95). WlaN ve cgtB genleri Guillain-Barre Sendromunda gangliozidlerin taklidinden ve β -1,3-galaktoziltransferaz üretiminden sorumludur (76, 78, 96). Kampilobakterlerin invazivliğinden sorumlu invazyon ilişkili belirleyici gen (*iam*, the invasion-associated marker) de bir diğer önemli virülens faktörüdür (78, 97).

CDT, *C. jejuni*'nin genomunda en iyi tanımlanan virülens faktörlerinden biridir (49). CDT'ler, son yıllarda keşfedilen hücre siklusunu durduran ve sonunda da hücrenin ölümüne neden olan bir grup toksindir. CDT'ler, ilk defa 1987 yılında tanımlanmıştır ve Labil toksin (LT), Stabil toksin (ST), verotoksin ve hemolizin gibi *Escherichia coli* toksinlerinden ayrı olarak sitopatik etkiye neden oldukları bildirilmiştir. CDT'ler, toksin aktivitesi için gerekli *cdtA*, *cdtB*, ve *cdtC* adındaki üç gen tarafından kodlanır. *CdtB*, enzimatik aktiviteden sorumlu en aktif alt birimdir. *CdtA* ve *CdtC*, *CdtB*'nin hedef hücreye translokasyonu için gereklidir (98, 99). Toksin hücreye bağlanınca *CdtB*, DNaz aktivitesiyle çekirdeğe gider, hücreyi hücresel siklusun G2 fazında tutar. CDT, hücreyi yavaşça şişirir ve sonunda da hücreyi öldürür. CDT'nin bu etkisi belirli hücrelerde (HeLa ve Caco-2 hücreleri gibi) gösterilmiştir (49). Ayrıca *CdtB*'ler, çift iplikli DNA'da kırıklar oluşturan deoksiribonükleaz I aktivitesine sahiptirler (98, 99).

Günümüzde kampilobakterler hem genel N-bağı protein glikolizasyon yoluna (en az 30 protein üzerindeki translasyon sonrası modifikasyondan sorumlu) hem de O-bağı sisteme sahiptirler. Her iki sistem de *C. jejuni*'nin virülensine katkıda bulunur. O-bağı glikolizasyon, flagellinlerin bir araya gelmesinde ve harekette, bunun sonucunda adezyonda, invazyonda ve *in vivo* virülens de etki göstermektedir (49).

Kampilobakterlerde, S katmanı bir virülens faktörü olarak rol oynamakta ve konak dokulara ve yüzeylere bakteriyel tutunmada görev almaktadır (99). Ayrıca yapılarının basit olmasından ve morfogenetik karakterinden dolayı S katmanları, lipid membranları gibi bir bariyer özelliği taşımaktadır. S katmanları bakteriyi proteolizisten ve komplementten fiziksel olarak korur, makrofaj infiltrasyonu ve direnci için gereklidir. S katmanı, prokaryotik hücrelerde glikoprotein alt birimlerinden oluşan iki boyutlu kristal dizilimli hücre zarı yapıtaşdır. Geçirgen, kristal dizilimli yapı hücre yüzeyini tamamen kaplamaktadır (100).

Kampilobakterlerin hücre duvarı, tipik olarak Gram negatif hücre duvarı özelliği taşımaktadır. Dış membrandaki lipopolisakkarit (LPS), en önemli virülens özelliklerinden biridir. Dış membranda yer alan lipid A komponenti ve tekrarlanan birimler membranı, komplement sisteminin membran atak kompleksinin etkisinden korumaktadır. Lipopolisakkarit, CD14'e aktaran serum proteinlerini (lipopolisakkarit bağlayıcı protein) bağlar. CD14-LPS kompleksi, makrofajların yüzeyindeki Toll-like reseptör kompleksi ile birleşip yangı öncesi sitokinlerini salgılatmaktadır (52).

Enterik hastalıklara katılan *C. jejuni*, birincisi kolera toksinine benzer aktiviteye sahip ve diğeri ısıya duyarlı olmak üzere iki ayrı toksin salgılamaktadır. Enterotoksinler, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine ve intraselüler ortamda cAMP birikmesine neden olur. Her iki toksin de hedef hücre yüzeyindeki aynı gangliozide bağlanmaktadır (52).

2.3. CAMPYLOBACTER JEJUNI

Etken, ilk defa sığır barsak içeriğinden Jones ve ark. (1931) tarafından "*Vibrio jejuni*" olarak tanımlanmıştır. İki tane alt türü vardır: *C. jejuni* subsp. *jejuni* ve *C. jejuni* subsp. *doylei*. *C. jejuni* denince *C. jejuni* subsp. *jejuni* akla gelir. *C. jejuni*, 1970'den bu yana

insan gastroenterit vakalarının en sık izole edilen bakteriyel etkenlerinden biridir (5, 6, 101, 102). *C. jejuni* subsp. *doylei*; dağılım, ekoloji ve karakter yönünden *C. jejuni* subsp. *jejuni*'den farklılık göstermektedir (102). Sıklıkla kuşları, kanatlıları, kedileri ve köpekleri içeren çok sayıda vahşi ve evcil hayvanın barsaklarında kommensal olarak bulunmaktadır. Etken, koyunlarda ve sığırlarda steriliteye ve abortlara neden olmaktadır. İnsanlara, kontamine su, gıdalar, tam olarak pişirilmemiş kanatlı ürünleri ve çiğ süt ile bulaşmaktadır. Çocuklar, süt ve evcil köpekler vasıtasıyla enfeksiyona yakalanırlar (3, 4, 103). Kanatlı hayvanlarda diğer kommensal türlere nazaran en sık izole edilen kampilobakter türü *C. jejuni*'dir (104-106).

2.4. CAMPYLOBACTER JEJUNI ENFEKSİYONLARI

2.4.1. İnsanlarda

C. jejuni, insanlarda gastroenterik enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biridir. Bazen *Campylobacter coli* ve *C. lari* de hastalığa karışabilmektedir (9). Bulaşma, infekte hayvan veya insanın dışkılarıyla kontamine olmuş gıdalar ve suyun oral yolla alınmasıyla gerçekleşir. Ayrıca, kanatlı etleri, insan enfeksiyonlarının en önemli kaynağıdır (7, 9, 107). Enfeksiyon tüm yıl boyunca ve yaz aylarında görülür. *C. jejuni*, hem kolonda hem de ince barsaklarda yangıya neden olur. Yangı; apendikse, mezenterik lenf düğümlerine ve safra kesesine yayılabilir; hatta bazı olgularda bakteriyemi gelişebilir. *C. jejuni* tarafından oluşturulan inflamasyon ve bakteriyemi sonucu doku tutulumu meydana gelir (7). Enfeksiyon insanlarda kendini sınırlayan bir özelliğe sahiptir (Self-limiting) (108). Dışkı, başlangıçta sulu ve mukoid kıvamda iken sonradan kan ve irin içeren sulu diyare gelişebilir. Semptomlar bir hafta içerisinde kaybolmaktadır (57). *C. jejuni* enfeksiyonu ile, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda ve endüstrileşmiş toplumlarda yetişkinlerde dizanteri benzeri diyareler sıklıkla görülmekle birlikte; sistemik enfeksiyonlara da rastlanmaktadır (7, 9). *C. jejuni* enfeksiyonlarını, Guillain-Barre sendromu (GBS), Periferik sinirlerin akut hastalığı ve reaktif artrit gibi enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar takip edebilir (7). *C. jejuni* nedeniyle oluşan enfeksiyon sonunda hastaların % 25'inde hastalık nüks eder fakat ikincisi genellikle ilkinden daha hafif seyirlidir. Enfeksiyon, sıklıkla antimikrobiyal tedaviye gerek kalmadan kendiliğinden iyileşir ve duyarlılık testi genellikle yapılmaz (57).

2.4.2. Sığır ve koyunlarda

C. jejuni, hem sağlıklı hem de ishalleri sığırların dışkılarında bulunmaktadır. Patojen olarak *C. jejuni*'lerin önemleri yenidoğan sığırlarda tartışmalıdır. *C. jejuni*'ler, ruminantların normal enterik florasının bir parçasıdır (109). Hastalığın taşıyıcılığı besi sığırcılığından ziyade süt sığırcılığında önemlidir. Sığırlarda *C. jejuni* sonucu oluşan hastalık ilkbahar ve sonbaharda en yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Hastalığın taşıyıcılığı mevsimsel olarak değişmektedir. Taşıyıcılık stresten etkilendiği için meraya giriş ve çıkış dönemlerinde artış göstermektedir. Ayrıca enfeksiyonun doğumdan sonraki dönemlerde de artış gösterdiği ve bu durumun ortaya çıkışında *Campylobacter* spp. mastitislerinden kaynaklanan kontamine sütlerin rol oynadığı bildirilmektedir (22, 110).

C. jejuni, koyunlarda kampilobakteriyozisin en önemli nedenlerindendir. Hastalık, dünya genelinde yaygınlık göstermekte ve bazı ülkelerde koyun abortlarına neden olmaktadır (111). *C. jejuni*'nin bulaşması, koyunlarda fekal oral yolla gerçekleşir. *C. jejuni*, gebelik süresince duyarlı koyunların uterusuna yerleşir (22) ve sonunda bakteriyemi gelişir. Gebeliğin son bölümünde abortla sonuçlanan nekrotik plasentitis şekillenmektedir. *C. jejuni*'nin neden olduğu hastalığa rağmen abort gerçekleşmeden, doğan yavrular zayıftır. Sürüdeki duyarlı olan hayvanlar, abortun en önemli kaynağını oluşturmaktadır. Hastalığı atlatan koyunlar, en az 3 yıl bağışık kalırlar ve sürü fertilitesi bundan sonraki dönemde normale döner. Teşhiste atık yavrudaki hepatik lezyonlar patognomiktir. Doğum sıvılarında ve fetal abomazum içeriğinde *C. jejuni*'nin gösterilmesi, teşhisi kolaylaştırır. *C. jejuni*, koyunlarda abortlara neden olan diğer enfeksiyöz ajanlardan ayırt edilmelidir. Yemlere ilave edilen klortetrasiklinlerin *C. jejuni* kaynaklı abort salgınlarını önlediği bildirilmiştir (9).

2.4.3. Kedi ve köpeklerde

Birçok kampilobakter türü, dizanteri ve diyaresi bulunan kedi ve köpeklerden izole edilmiştir. Bu hayvanlarla temas halinde bulunan insanlarda da akut enterit olguları bildirilmiştir (9, 111). *C. jejuni*, diğer yaşlarda asemptomatik kedi ve köpeklerde dışkı vasıtasıyla etrafa yayılır (22). İshalleri köpeklerde çeşitli klinik materyallerin mikroskopik incelenmesinde çok sayıda *Campylobacter* spp. benzeri organizmanın varlığı

enfeksiyonun göstergesi olabilir. *C. jejuni*; çeşitli virüsler, helmintler ve parazitler ile birlikte bulunarak köpeklerde enterik hastalıkların şiddetini artırmaktadır. Genç, halsiz ve immun suprese kedi ve köpekler, *C. jejuni*'nin neden olduğu hastalıklar yönünden risk altındadır. Enrofloksasin, kedi ve köpeklerin *C. jejuni*'yi etrafa yaymalarını engeller. Kedi ve köpekler, *C. jejuni* enfeksiyonu yönünden insanlar için büyük risk kaynağıdır (9).

2.4.4. Kanatlılarda

Kanatlılarda en sık izole edilen tür *C. jejuni* olmakla birlikte, *C. coli* daha az oranda izole edilmektedir. Kanatlılar, memeliler için kontaminasyon kaynağı olarak rol oynar. Etkenin kanatlılarda konakçı spektrumu oldukça geniştir (112). Kanatlıların yoğun olarak yetiştirilmesi ve yüksek vücut ısılarından dolayı, *C. jejuni* kanatlılarda kolaylıkla kolonize olabilmektedir. Bu durum çapraz enfeksiyonlara neden olmaktadır (3, 113). Kanatlılar, koprofajik olduğundan; etkenin dışkı ile çıkışı, enfeksiyonun sürüde yayılması açısından önemli bir yer tutmaktadır. Sürüde ilk *C. jejuni* varlığı saptandıktan sonra, etkenin yayılışı çok hızlı olmakta ve sadece birkaç gün içinde kanatlıların tümü etkeni taşımaya başlamaktadır (12). Yetiştirme döneminde kümeslerde başlayan bu kontaminasyon, tavukların kesimhaneye girmesinden sonraki süreç boyunca da devam etmektedir. Tavuk kesimhanelerinde haşlama, tüy yolma, organ çıkarma, soğutma ve paketlenme işlemleri esnasında *Campylobacter* spp. kontaminasyonu olabilmektedir. Özellikle iç organ çıkarma basamağı, kontaminasyon riski açısından önemli bir noktadır. İşlem esnasında barsağın kesilmesi veya delinmesi, bu riski artırmaktadır. Bu şekilde ticari olarak işlem görmüş broiler karkaslarının yaklaşık % 80'inde *C. jejuni* bulunmaktadır (62). Kontamine kanatlı karkaslarına yeterince ısı işlemi uygulanmazsa, bunları tüketen insanlarda gıda zehirlenmeleri ortaya çıkabilmektedir (111, 114). Buna ilaveten, kanatlı ham ürün, üretim aşamasında insanlarda enfeksiyonların el-ağız yoluyla da oluştuğu bildirilmektedir (3, 113).

Kanatlılarda etken, "Vibriyonik hepatit" olarak bilinen hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalıkta, karaciğerde 1-2 mm çapında, grimsi beyaz renkte fokal lezyonlar görülmektedir. Lezyonlar daha sonra 4 cm boyutlarına ulaşır, karaciğerin büyük bir kısmına yayılır ve nekrotik-hemorajik özellik kazanabilmektedir (115). Ayrıca kanatlılarda letarji, anoreksiya, diyare (sıklıkla sarımtırak renkte dışkı) ve zayıflama

şeklinde klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır. *C. jejuni* birkaç hafta içerisinde tüm sürüye yayılabilmekte, fakat kendiliğinden iyileşme veya nüksler görülebilmektedir. Ani ölüm, karaciğer yırtılmasına bağlı olarak gelişebilmektedir (112). Şiddetli enfekte kanatlılarda kayıtsızlık ve kondüsyon düşüklüğü görülmektedir. Karaciğerde hemoraji ve multifokal nekroz alanları bulunmaktadır. *C. jejuni*'nin kanatlılarda neden olduğu enfeksiyonların olası teşhisi, faz kontrast mikroskobu ile safradan yapılan preparasyonlarda sıçrayıcı hareket yapan kıvrık çomakların görülmesiyle yapılmaktadır. Hastalığın erken safhalarında dihidrostreptomisin'in yemlere katılması tedavi yönünden yararlı olabilir (9).

2.5. CAMPYLOBACTER JEJUNI ENFEKSİYONLARINDA TANI

2.5.1. Mikroskopik İnceleme

C. jejuni'nin mikroskopik identifikasyonu, klinik materyalden hazırlanmış taze veya boyalı preparatlarda, etkenin karakteristik hareketinin ve morfolojisinin, karanlık saha veya faz-kontrast mikroskobu ile incelenmesiyle yapılmaktadır (9, 112). Bu incelemede *C. jejuni*'nin sıçrayıcı (darting), tirbuşon tarzında hızlı tipik hareketlerinin görülmesi tanıya yardımcı olur. Ayrıca *C. jejuni*, Gram boyama yöntemiyle zayıf boyandığı için bu yöntemde karbol fuksin ya da bazik fuksinin zıt boyama amacıyla kullanılması önerilmektedir (42). Gram boyama sonunda pembe renkte, martı kanadı, S veya virgül şeklindeki kampilobakterlerin tipik görünümleri aranmaktadır (36).

2.5.2. İzolasyon ve İdentifikasyon

C. jejuni enfeksiyonlarının teşhisi için, etkenin ilk olarak enfekte materyalden izolasyonu gerekmektedir (112). Bu amaçla ilk olarak örneklerin laboratuara uygun koşullarda nakli gerekmektedir. Tiyoglikolatlı ve sistinli alkali pepton (116), modifiye stuart besiyeri (117) ve Cary-Blair besiyeri (118) taşıma besiyeri olarak kullanılmaktadır. Modifiye Cary-Blair besiyeri, *Campylobacter* spp. ve diğer enterik patojenlerin izolasyonunda en etkili ve uygun taşıma besiyeridir (116, 119).

Çevresel örneklerden kampilobakter türlerini tespit etmek için, örnekler 1-2 gün ön zenginleştirmeye tabi tutulur. Bunu takiben 1-2 gün selektif besiyerinde inkube edilerek bakterinin saf olarak üremesi sağlanır (12). Gastroenteritli insanların diyareli dışkı

örnekleri oldukça fazla miktarda ve canlı kampilobakter türlerini içerdiğinden, etken, ön zenginleştirme işlemine maruz kalmadan direkt olarak selektif besiyerine ekim yöntemi ile saptanabilmektedir. Ancak, gıdalar ve çevresel örnekler çeşitli dış çevre faktörlerinin etkisinden dolayı az sayıda ve hasar görmüş bakteriler içermektedir (120).

Gıdalardan kampilobakter türlerini tespit etmek amacıyla 25 g gıda örneğine 100 ml enrichment broth, bütün tavuk karkası üzerine peptonlu su, gıda sıvı ise santrifüj edilip dip tortu üzerine enrichment broth ilave edilir. Örnek su ise (tercihen 2-4L), 0,45µm çapındaki filtrelerden süzülür ve ön zenginleştirmeye tabi tutulmaktadır. Ön zenginleştirme işlemi 30° C'de 3 saat, 37° C'de 2 saat veya 37° C'de 4 saat kadar sürebilmektedir (120).

İzolasyonda kullanılan katı ve sıvı selektif besiyerlerine sefoperazon, sikloheksimid, trimetoprim, rifampin, vankomisin, polimiksin B ve amfoterisin veya nistatin gibi antibiyotikler ilave edilmektedir. Ayrıca, ışığın ya da oksijenin etkisiyle oluşabilecek toksik bileşikler nötrlemek için selektif besiyerlerine genellikle steril lize koyun ya da at kanı, kömür, hematin ve demir sülfat, sodyum metabisülfid ve sodyum pürivatın kombinasyonu (FBP) gibi oksijen tüketen bileşikler katılmaktadır (49, 61). Çeşitli çalışmalar sonucunda en yüksek izolasyon oranlarına, zenginleştirici besiyeri olarak Bolton Broth'un, selektif agar olarak ise modified blood-free mCCDA agarın kullanılmasıyla ulaşıldığı bildirilmiştir (49).

Besiyerleri, ekim yapıldıktan sonra 37° C'de mikroaerobik ortamda inkübe edilir. Kanlı agarda 24-48 saatlik inkübasyon sonunda, *C. jejuni*'nin 0,3-0,5 mm çapında, su damlası gibi nemli, gri/beyaz, hemoliz yapmayan tipik kolonileri oluşur. Kansız kömürlü besiyerinde ise; 72-96 saatlik inkübasyon sonunda, *C. jejuni* 0,5 mm çapında, grimsi renkte, bazen metalik refle veren düz yüzeyli ancak yayılma eğilimi gösteren koloniler oluşturur (Şekil 2.4) (36).

Farklı morfolojiye sahip *Campylobacter* spp. şüpheli koloniler



Şekil 2.4. mCCD agarda *Campylobacter* spp. şüpheli kolonilerin görünümü

C. jejuni'nin biyokimyasal olarak aktif olmaması ve identifikasyonunda az sayıda fenotipik testin bulunması, bu bakterilerin tür bazında tanımlanmalarını zorlaştırmaktadır (23). Nalidiksik aside ve sefalotine duyarlılık, hidrojen sülfür üretimi, nitrat redüksiyonu, 25° C'de veya 42° C'de üreme ve katalaz reaksiyonu, kampilobakter türlerinin teşhisinde kullanılan önemli testlerdir (9, 43). Mikroaerobik ortamda 42° C'de inkube edilmiş, selektif besiyerinde üretilmiş, Gram boyamada kıvrımlı Gram-negatif çubukcuk karakteri sergileyen, oksidaz pozitif koloniler; *Campylobacter* spp. şüpheli olarak tanımlanır. *C. jejuni*, kampilobakterler içerisinde hippurikaz enzimini üreten tek tür olduğu için, hippurat pozitif izolatlar *C. jejuni* olarak tanımlanır. Bununla birlikte hippurikaz negatif *C. jejuni* izolatlarının varlığı da bildirilmiştir (9, 23). Bu yüzden *C. jejuni*, hippurikaz negatif olan *C. coli*'den sadece biyokimyasal testler kullanılarak ayırt edilememektedir (49).

Hippurat Hidroliz Testi

Kampilobakterler içerisinde *C. jejuni*, sodyum hippuratı hidroliz eden tek türdür (9). Yöntem, sodyum hippuratın hippurikaz enzimiyle sodyum benzoat ve glisine hidrolizi temeline dayanmaktadır. Glisin, ninhidrin ayırıcı ile oksidasyon reaksiyonu sonucu koyu mor rengin oluşmasıyla tespit edilmektedir (121). Test amacıyla *C. jejuni*'nin 24-48 saatlik kültüründen bir öze dolusu alınarak 0,4 ml % 1'lik sodyum hippurat çözeltisi içerisinde çözündürülür ve tüpler 37° C'de 2 saat inkube edilir. Sonra bu tüplere 0,2 ml ninhidrin ayırıcı ilave edilir ve 37° C'de 10 dk. inkube edilir. Pozitif reaksiyon koyu mor rengin oluşmasıyla ortaya çıkar. Ninhidrin solüsyonu bire bir oranındaki aseton

butanol karışımına 3,5 g ninhidrinin ilavesiyle elde edilir (9). Renk değişiminin olmaması negatifliği göstermektedir. Yoğun olmayan inokulumlar ya da eski kültürler, hatalı negatifliğe sebep olabilir (121).

Hidrojen Sülfür (H₂S) Testi

Bazı organizmalar sülfürü; inorganik sülfürden enzimatik yolla H₂S bileşikleri halinde ya da proteinlerden proteoliziz yoluyla, sülfür içeren aminoasitler olarak serbest hale getirir (32). İnorganik sülfür bileşiklerinden H₂S'in tespitinde besiyerindeki sodyum tiyosülfat ile bakteri reaksiyona girer, sülfür ile H₂S son ürün olarak ortaya çıkar. Renksiz olarak salınan H₂S gazı, demir iyonlarıyla ya da kurşun asetat ile reaksiyona girince siyah renkli çözünmeyen presipitatlar olan demir sülfür ya da kurşun sülfür'ü meydana getirir. Kurşun asetat, oldukça duyarlı bir ayıraçtır ve organizmaların eseri miktardaki H₂S üretimini belirlemede kullanılmaktadır. H₂S üretiminin tespitinde bundan daha az duyarlı olarak ise; Kligler's Iron Agar (KIA), Triple Sugar Iron (TSI) Agar, Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD), Hektoen Enteric Agar (HE) ve *Salmonella-Shigella* Agar (SS) gibi besiyerleri rutin olarak laboratuvarlarda kullanılmaktadır (42).

İndoksil Asetat Disk Testi

Bu test, 1987 yılında *C. jejuni* ve *C. coli*'yi (pozitif), *C. lari* ve *C. fetus* (negatif)'den ayırt etmek amacıyla geliştirilmiştir. İndoksil, insan barsaklarında bakteriyel esterazlarla bir triptofan ürününün putrefaktif dekompozisyonudur. Bu enzimin varlığı *in vitro* olarak indoksil asetatın bakteriyel hidrolizi ve indoksilin açığa çıkması ile gösterilmektedir. İndoksil, daha sonra oksijenle birleşir ve kendiliğinden indigoya dönüşür (42).

2.5.3. Moleküler Tanı Yöntemleri

Klasik identifikasyon yöntemleri, uygulanması zor, pahalı, zaman alıcı, düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu için, son yıllarda bu yöntemlerin klinik örneklerden *C. jejuni* tanısında kullanımı azalmıştır (122). Ayrıca *C. jejuni* ve *C. coli*, morfolojik ve fizyolojik benzerliklerinden dolayı birbirinden ayırt edilmesi zor iki kampilobakter türüdür. Bu iki kampilobakter türünün birbirinden ayırt edilmesinde kullanılan hippurat testi de hippurikaz negatif *C. jejuni*'lerin varlığından dolayı bu özelliğini kaybetmiştir

(23). Bu nedenle, daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan nükleik asit temelli moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (49). Moleküler tanı yöntemleri ile *C. jejuni*'nin genom düzeyinde tanımlanması ve tiplendirilmesinin yanı sıra patogeneze, antibakteriyel dirençten sorumlu genler ve gen mutasyonlarının tespiti de mümkün olabilmektedir (122).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): PZR, çok yönlü ve yaygın kullanılan bir amplifikasyon tekniğidir. PZR, DNA'nın ya da RNA'nın kalıp DNA, kısa DNA parçaları veya primerler (sıklıkla 20-25 baz uzunluğunda), ısıya dayanıklı DNA polimeraza benzer Taq polimeraz ve termal cykler gerektiren *in vitro* enzimatik amplifikasyonudur (123).

C. jejuni'yi tespit ve identifiye etmek için çok sayıda PZR yöntemi geliştirilmiştir. Bunların birçoğu, saf kültürle yapılmış ya da insan dışkı örnekleri için geliştirilmiştir. PZR temelli tespit yöntemlerinin en önemli avantajları, yüksek özgünlük, duyarlılık ve hızdır. En önemli dezavantajlarından biri de primer bağlanmasını ya da Taq aktivitesini engelleyen inhibitör maddelerin varlığından kaynaklanan yanlış negatif sonuçlardır (123). Amplifikasyonda kullanılacak DNA, ya eldeki imkanlarla ya da ticari kitlerle izole edilir. Hedef genetik materyalin amplifikasyonu, PZR metodu tasarlanırken en fazla dikkat edilmesi gereken kısımdır. PZR'da hedefler seçici olarak amplifiye edilirken, genomun farklı bölgeleri de amplifiye edilebilir. rRNA'da *Kampilobakter* türlerinin tespitinde kullanılan genusa özgün, oldukça iyi korunan bölgeler bulunmaktadır (49). 16S rRNA genleri, bunlara en iyi örnektir ve *kampilobakter*lerin tespitinde sıkça kullanılmaktadır. Bazı genetik hedefler sadece belli bir türe özgüdür. *C. jejuni*'nin genustaki diğer türlerden ayrımında kullanılan belirli genler bulunmaktadır. Bunlardan hippurat geni *hipO*; hippurat hidroliz için kodlanır, *C. jejuni* türlerinde yaygın şekilde bulunur. Bu gen, hippurat negatif suşların bulunmasıyla artık *C. jejuni*'nin identifikasyonunda kullanılmamaktadır. Bunun yerine *C. jejuni* ve *C. coli*'yi ayırmada kullanılan *ceuE* geni gibi gen parçaları kullanılmaya başlanmıştır. Bu gen her iki türde de bulunmaktadır, fakat uygun primer seçimi ile ayırım sağlanabilmektedir (49, 124). Ayrıca *kampilobakter* türlerinin moleküler yöntemle tanımlanmasında; termofilik *kampilobakter*lerin 23S rDNA geni, bu gende 43. ve 69. heliksler arasında yer alan 491 bp uzunluğundaki spesifik bölge ve çeşitli restriksiyon enzimleriyle kesilerek elde edilen DNA fragmentlerinin polimorfizminden de

faaydalanılmaktadır (125). Sonuç olarak; kampilobakterlerin moleküler yöntemle identifikasyonunda kullanılan primerler ve test yöntemleri heterojendir ve bu yüzden PZR yönteminde doğrulama ve optimizasyonun sağlanması gerekmektedir (49).

2.6. *CAMPYLOBACTER JEJUNI* ENFEKSİYONLARINDA KORUNMA ve TEDAVİ

Tavuklarda ve hindilerde görülen avian enfeksiyöz hepatitin tedavisi genellikle mümkün değildir (4). Köpek, kedi, at ve yeni doğan ruminantların şiddetli enfeksiyonlarında oral veya parenteral yolla eritromisin, enrofloksasin ve tetrasiklin gibi antibiyotikler uygulanır (126). İnsanlarda *C. jejuni*'nin neden olduğu enfeksiyonların büyük bir kısmı kendini sınırlayan şekildedir (108) ve hastaların büyük kısmı kendiliğinden iyileşir, tedavi çoğu zaman gerekemeyebilir (52). Bununla birlikte ciddi enfeksiyonlarda, eritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklinler, *C. jejuni* enfeksiyonlarının tedavisinde sıkça kullanılmaktadır (42, 127). Siprofloksasin hem kampilobakterler hem de diğer enterik patojenler üzerinde etkilidir. Eritromisine ilaveten yeni geliştirilen makrolidler kampilobakter enfeksiyonlarının tedavisinde etkilidir fakat bu ilaçlar oldukça pahalıdır (42). Tetrasiklinlere ise son yıllarda yüksek oranlarda direnç gözlenmeye başlamıştır (127). İnsanlarda *C. jejuni* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı artan direnç nedeniyle duyarlılık testlerine ihtiyaç bulunmaktadır (4).

Kampilobakterlerin neden olduğu hastalıkların kontrolü amacıyla hayvanların bulunduğu yerlerde el yıkama, temizlenme ve dezenfeksiyon uygulamaları gibi sıkı hijyenik tedbirlerin titizlikle uygulanması gerekmektedir (52). Korunma amacıyla kişisel temizlik, pişirilmemiş kanatlı ürünlerinin iyice yıkanması ve bu ürünlerin hiçbir mutfak eşyası ile temas etmemesi gerekmektedir. Bununla birlikte, kampilobakter kontaminasyonu pişirme ile elimine edilebilir (32). Bağışıklama uygulamalarının, insanları *C. jejuni* kaynaklı enteritislerden koruyamadığı bildirilmiştir (52). Ayrıca, *C. fetus* subsp. *fetus* enfeksiyonlarında kullanılan bivalan aşılarda koyunlarda korunma amacıyla uygulanabileceği bildirilmiştir (126). Kompetetiv eksklüzyon mekanizmasının kullanılmasıyla örneğin; yetişkin tavukların anaerobik sekal floralarla beslenmesiyle, hayvanlar *C. jejuni* kaynaklı enfeksiyonlardan korunabilmektedir (128). Bundan başka kanatlılar ve kontamine kanatlı et ürünlerindeki *C. jejuni* kolonizasyonunu azaltmak için

bakteriyofajlar kullanılmıştır. Bakteriyofajların kullanılmasıyla kampilobakterlerin eliminasyonu hedeflenmiştir (129).

2.7. ANTİBAKTERİYELLER ve DİRENÇ MEKANİZMALARI

Kemoterapi, 19 yüzyılda Paul Erlich tarafından, vücuda giren mikroorganizmaları seçici toksisite yani konağa zarar vermeden sadece hastalık etkeni mikroorganizmanın öldürüldüğü ilaçlar ile yapılan tedavi şekli olarak tanımlanmıştır (4, 130, 131). Kemoterapötikler, mikroorganizmaların üzerinde çok küçük miktarlarda kullanıldığında (sağaltım dozları) zarar verici etkileri (parazitotrop etki) fazla olan, buna karşılık organizma üzerindeki etkileri (organotrop etki) çok az olan ya da hiç bulunmayan, enfeksiyon hastalıkların sağaltımı amacı ile kullanılan kimyasal maddelerdir (132). Kemoterapötiklerden antibiyotikler, bakteri ve mantarlar gibi çeşitli mikroorganizma türleri tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini önleyen veya onları öldüren, düşük molekül ağırlıklı kimyasal maddelerdir (4, 130). Antibiyotikler, ilk defa Pasteur ve Joubert (1877) tarafından bazı kontaminantların *Bacillus anthracis* kültürleri üzerinde öldürücü etkisinin tespit edilmesiyle keşfedilmiştir. Benzer şekilde Flemming (1929) tarafından bir mikroorganizmanın diğeri üzerinde öldürücü etkisi stafilokok kültürlerinin gelişiminin *Penicilium notatum* mantarları tarafından inhibe edilmesi şeklinde gösterilmiştir. Penisilinin keşfinden sonra antibiyotikler üzerine birçok çalışma yapılmıştır. *Streptomyces*'ler ve *Actinomyces*'ler de bu amaç için kullanılmıştır (4).

2.7.1. Etki Mekanizmaları

Antibiyotikler, bakteri hücre gelişimini engellemek için bakterinin hayati öneme sahip bir yapıtaş ile ilişkiye geçerek ya da herhangi bir metabolik yolu bloke ederek etki gösterir. Antibiyotikler etkilerini gösterirken, memeli hücresi ile bakteri hücrelerini ayırt ederler (Seçici toksisite) (9). Antibiyotikler, bakteri popülasyonları üzerinde yaptıkları etkinin derecesine göre bakteriyostatik ve bakterisid olmak üzere ikiye ayrılırlar (4, 9). Bakteriyostatik etkide, bakteri hücresinin gelişmesi ve üremesi önlenir, bakteri doğrudan doğruya öldürülmez (tetrasiklinler, sülfanamidler). Gelişme ve üremesi durmuş bakteriler vücudun savunma sistemi tarafından kolaylıkla yok edilir (130). Bakteriyostatik etkili ilaçlarla yapılan tedavi şeklinde antibakteriyel madde, dokularda yeterli düzeylere ulaşamazsa bakterinin hayatta kalmasına neden olur (9). Bakterisid

etkide ise bakteriler direkt olarak öldürülür (penisilinler, aminoglikozid antibiyotikleri). Yüksek konsantrasyonlarda eritromisin gibi bakteriostatik antibiyotikler de bakterisidal etki gösterebilir (4, 9, 130). Bakteriyostatik ve bakterisid etkili kemoterapötikler kombine edildikleri zaman birbirlerine karşı sinerjistik, additif, endifferan ve antagonist etki gösterebilmektedir. Kemoterapötik ilaç kombinasyonlarında ortaya çıkan etkiler; bakteri türü, üreme ve gelişme durumları ve ilaçların çeşidine göre değişir. Kombinasyon halindeki ilaçların mikroorganizma yapısındaki etki yerleri, birbirlerinden farklıdır. Gelişigüzel kemoterapötik kullanımı sonucu, dirençli mikroorganizmalar sayısal ve çeşit yönünden artar. Aynı zamanda, kemoterapötiklerin toksik ve yan etkileri ile alerjik olaylar da çoğalır (131). Bir kemoterapötik ilaca duyarlı mikroorganizma türlerinin tümüne o ilacın antibakteriyel spektrumu adı verilir (9). Antibakteriyel spektrum, kemoterapötik ilacın çeşidine göre farklılık gösterdiğinden, etkelediği bakteri türü ve sayısına göre, dar, orta ve geniş olmak üzere başlıca üç gruba ayrılmaktadır (131).

Antibiyotikler; bakteri hücre duvarı sentezinin inhibe edilmesi, hücre membranının permabilitesinin arttırılması, ribozomal protein sentezinin engellenmesi ve ara metabolizmanın bozulması yolları ile etki gösterir (9, 133).

Tablo 2.4. Antibiyotiklerin etki mekanizması (130).

Etki Mekanizması	Antibiyotik
1. Bakteri hücre duvarı sentezinin bozulması	Penisilinler, Sefalosporinler, Aztreonam, İmipenem, Basitrasin, Vankomisin, Teikoplanin
2. Sitoplazma membranının geçirgenliğinin bozulması	Polimiksinler, Gramisidin, Nistatin, Amfoterisin B, Ketokonazol ve diğer antifungal imidazoller, Flukonazol ve diğer antifungal triazoller
3. Protein sentezinin inhibe edilmesi	Kloramfenikol, Eritromisin ve diğer makrolidler, Tetrasiklinler, Kuinupristin-Dalfopristin, Linezolid, Aminoglikozidler
4. Nükleik asit sentezinin bozulması	Rifampisin ve diğer rifamisinler, Nalidiksik asid, Florokinolonlar, Metronidazol (kısmen)
5. İntermediyer metabolizmayı bozanlar (Bakteriyel antimetabolitler)	Sülfonamidler, Trimetoprim, Sülfonlar, İzoniazid, Etambutol, PAS

2.7.2. Makrolid Grubu Antibiyotikler ve Direnç

Makrolidler, protein sentezini inhibe eden bakteriyostatik ajandır. Makrolidler, 70S'lik ribozomun 50S'lik alt ünitesine geri dönüşümlü olarak bağlanarak, akseptör noktada (A noktasında) geçici olarak bulunan aminoasil tRNA molekülüne bağlı yeni peptid zincirinin peptidil (P) noktasına kaymasını (translokasyon olayını) inhibe eder, yani transpeptidasyon basamağındaki protein sentezinin uzamasını durdurarak peptidil-tRNA'nın ayrışmasına neden olur (127, 130, 134). Makrolidler, ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak bakterisid etkili de olabilirler (135). Makrolidlerden eritromisin, özellikle *C. jejuni* enfeksiyonlarında etkili ve klinik olarak güvenli makrolid grubu antibiyotiklerdendir (127, 134). Klaritromisin, azitromisin ve roksitromisin antibiyotiklerinin hedef bölgedeki bağlanma yerleri çakışmaktadır. Bu nedenle bu üç antibiyotik türü, ribozomdaki hedef bölgelere yarışarak birbirlerinin etkilerini inhibe ederler. Bu yüzden bu antibiyotikler birlikte kullanılmazlar. Ayrıca, bu antibiyotiklere benzer kimyasal yapıya sahip diğer antibiyotiklere karşı da çapraz direnç ortaya çıkabilmektedir (130). Makrolid grubu antibiyotiklere karşı direnç, dört mekanizma ile ortaya çıkabilir (134). İlk mekanizmada; makrolid, 50S ribozomal alt ünitenin 23S RNA'sındaki adeninin dimetilasyonu sonucu hedef dokuya bağlanamaz (127, 136) Gram pozitif bakterilerdeki eritromisin direncinin en önemli nedeni bu mekanizmadır. Bu olaya neden olan metilaz, makrolidler tarafından indüklenebilir ya da ortamda bir makrolid olmaksızın sürekli üretilebilir (yapısal). Yapısal metilaz üretimi, aynı zamanda yapıları farklı, ancak etki mekanizmaları benzer olan linkozamid ve streptograminlere de direnç gelişmesine neden olur. Bu nedenle, bu tip dirence MLS tip B direnci adı verilir (136). İkinci mekanizma da; Gram negatif enterik basillerde permeabilitenin azalması nedeniyle makrolidlere karşı direnç göstermesidir. Makrolidlerden azitromisin bu mekanizmayı kullanarak *H. influenzae* başta olmak üzere bazı bakterilere karşı etkili olmaktadır. Üçüncü mekanizma; enzimatik yolla antibiyotiğin inaktive edilmesidir. Bu inaktivasyon; en sık esterazlar yolu ile, daha seyrek olarak da fosfotransferazlarla gerçekleşir (136). Fakat bu mekanizma kampilobakter türlerinde gösterilmemiştir (134). Makrolid direncindeki bu mekanizma, en sık *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakterilerde, *P. aeruginosa*'da ve laktobasillerde görülür. Son mekanizmada; bazı stafilokok ile streptokoklarda görülür ve makrolidlerin aktif pompalama ile hücre dışına

atılması şeklindedir (136). Birinci ve dördüncü mekanizma sinerjistik olarak çalışır ve yüksek seviyedeki makrolid direncinden sorumludur (134).

Kampilobakterlerde makrolid grubu antibiyotiklere karşı direnç, 23S rRNA üzerindeki ribozomal proteinlerin modifikasyonu (L4 ve L22) (108) ve bu bölgede şekillenen nokta mutasyonu (A2074C ve A2075G mutasyonları, *E. coli* numaralandırmasına göre A2058C ve A2059G mutasyonları) sonucu olmaktadır (127, 134, 137). L4 ve L22 ribozomal proteinlerin değişmesi düşük seviyedeki makrolid direnci ile ilişkilidir. Yine de L4 ve L22 modifikasyonlarının (mutasyon, insersiyon ve delesyon) gerçek rolleri tam olarak bilinmemektedir (108). Makrolidin ribozoma bağlanamaması sonucu yüksek düzeyde direnç ortaya çıkar. Buna neden olan mutasyonlardan kampilobakter türlerinde eritromisin direncinde 23S rRNA geni üzerindeki (*rrnB* operonu) A2075G mutasyonuna daha sık rastlanır (23, 134, 108). *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarında 23SrRNA geninin üç kopyası bulunur (108). Makrolid dirençli izolatlarda (özellikle eritromisin direncinde) kopyaların her üçü de sıklıkla mutasyona uğrar (108). Düşük makrolid MİK seviyesi bulunan izolatlarda genin etkilenme düzeyine bağlı olarak sadece iki gen kopyası mutasyona uğrayabilmektedir (134).

CmeABC efluks pompalarının bazı izolatlarda tilosin ve azitromisin MİK seviyelerini düşürdüğü ve makrolid direncine neden olabileceği bildirilmiştir (23). Efluks pompaları, 23SrRNA mutasyonları ile sinerjistik fonksiyon göstererek yüksek seviyedeki makrolid direncine neden olmaktadır. Makrolid direnci bulunan fakat 23SrRNA mutasyonu bulunmayan mutantlarda *cmeB* geninin bozulması veya antisens aracılı *cmeA* geninin susturulması ile CmeABC taşıyıcısı inaktive edilir ve makrolid duyarlı fenotipe dönüş gerçekleşir. Ayrıca çalışmalarda tam olarak tanımlanamamakla birlikte ikinci bir efluks sisteminin düşük seviyede makrolid direncine neden olduğu bildirilmiştir (134).

Bir diğer mekanizmada makrolid direnci; *porA* tarafından kodlanan, büyük dış membran porinlerinin (MOMP) salınımının aracılık ettiği membran geçirgenliğinin değişmesidir. Gram negatif bakterilerde, porinler dış membran proteinleridir, transmembran geçitlerini oluşturur ve birçok hidrofilik özellikteki antibiyotiğin pasif difüzyonuna izin verilmektedir. *C. jejuni* ve *C. coli*'de bulunan porlar, *E. coli*'de bulunanlardan daha küçüktür. Bu nedenle moleküler ağırlığı 360'dan büyük (Makrolidlerin molekül ağırlığı > 700) moleküllerin geçişini sınırlamaktadır. Ancak,

Makrolidlerin kampilobakter türleri üzerinde etkisi porinlerin hidrofilik moleküllerin geçişi için uygun bir ortam olması, hidrofilik özellikteki makrolidlerin de bu sayede sitoplazmaya geçişini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca kampilobakter türlerinin doğal olarak lipooligosakkaritlerinde (LOS) hidrofilik O-antijen şekerleri doğal olarak bulunmamaktadır. Bu durum da makrolidlerin hücre içerisine alımını artırmaktadır (134).

Eritromisin direnci azitromisin ve klaritromisin gibi diğer makrolidlere karşı hatta yakından ilişkili linkozamid ve streptogramin grubu ilaçlara da çapraz direncin şekillenmesine neden olmaktadır (108). Yapılan bazı çalışmalarda, *C. coli*'deki makrolid direncinin *C. jejuni*'dekinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Makrolidlerin hayvanlarda gelişmeyi artırıcı olarak kullanımı, Avrupa Birliği ülkelerinde 1999'dan beri yasaktır. Fakat halen makrolidlerin terapötik amaçlarla kullanımının devam ettiği, bunun da makrolid direncinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (23).

2.7.3. Kinolon Grubu Antibiyotikler ve Direnç

Kinolonlardan en önemli antibiyotik, insan kampilobakteriyozisinin tedavisinde kullanılan siprofloksasin'dir (127). Ayrıca enrofloksasin, evcil hayvanlarda *C. jejuni* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde sıkça kullanılmaktadır (9).

Kampilobakter türlerinde kinolon direncinde hedeflerin inaktivasyonu ve kinolonların dışa atılımı şeklinde iki önemli mekanizma rol oynamaktadır. Bu iki mekanizma sinerjik olarak çalışmaktadır (134). Kinolonlar, DNA replikasyonunda iki önemli bakteriyel enzimi hedef alırlar: DNA giraz (Tip II topoizomeraaz) ve DNA topoizomeraaz IV (108). DNA giraz, DNA'daki negatif süpersarmalı hazırlar; topoizomeraaz IV ise bağların ayrılmasından sorumludur. Her iki enzim de birlikte çalışırlar. DNA replikasyonu, transkripsiyonu, rekombinasyonu ve DNA'nın tamirinden sorumludurlar (108). Bu iki enzimin inhibisyonu, bakteriyel üremenin durması anlamına gelmektedir (127, 134). DNA giraz, *gyrA* ve *gyrB* genleri tarafından kodlanırken; topoizomeraaz IV ise *parC* ve *parE* genlerince kodlanan bir tetramer yapısı göstermektedir (23, 108, 134). Kinolonlar, DNA giraz ve topoizomeraaz IV enziminin fonksiyonlarını engelleyerek DNA replikasyonunu önler. Makrolid direncine benzer şekilde kinolonlara karşı şekillenen direnç de kromozomal mutasyondan kaynaklanır ve bir sonraki nesile

aktarılamaz (23). *C. jejuni*'deki kinolon direnci *gyrA* genindeki kinolon direncini belirleyen bölge (QRDR)'deki spesifik nokta mutasyonu aracılığıyla gerçekleşir (134). Kampilobakter türlerinde Thr-86-İle, Asp90Asn, Thr86Lys, Thr86Ala, Thr86Val ve Asp90Tyr mutasyonlarına rastlanmaktadır (108). Thr-86-İle (C256T) mutasyonu en sık rastlanan mutasyondur (134). Bu mutasyon yüksek seviyedeki nalidiksik asid ve siprofloksasin direnciyle ilişkilidir (127, 134). Bununla birlikte daha az sıklıkla rastlanan Thr-86-Ala mutasyonu sonucu sadece nalidiksik asite karşı direnç şekillenirken; florokinolonlara karşı direnç görülmez. Yüksek seviyedeki mutasyon için sadece bir nokta mutasyonunun yeterli olması, insanlar ve hayvanlar arasında florokinolon dirençli mutantların hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmaktadır (134). Asp-90, Ala-70'dan daha sık mutasyona uğrayan bir bölgedir (127). Her iki mutasyon sonucunda florokinolonlara orta seviyede direnç şekillenmektedir. *GyrB* geninde mutasyonun varlığı gösterilmiş olsa da bu mutasyonun florokinolon direnci ile ilişkisi bulunmamaktadır (134).

Kinolonlara karşı direncin mekanizmasında her ne kadar mutasyonlar belirtilse de, bunun yanında diğer mekanizmaların da (CmeABC efluks pompaları) dirence katkıda bulunduğu bildirilmektedir (23). Kromozomal olarak kodlanan efluks CmeABC pompaları florokinolonların ve diğer antibiyotiklerin hücre içi konsantrasyonlarını azaltır. Efluks pompaları DNA giraz mutasyonları ile sinerjistik etki göstererek yüksek düzeydeki florokinolon direncine neden olmaktadır. CmeABC efluks pompalarına ilaveten CmeG pompası da dirençte rol oynamaktadır. *CmeG*'deki mutasyon sonunda siprofloksasin direncinde azalma görüldüğü bildirilmiştir (134).

İnsan kampilobakter izolatlarının florokinolonlara karşı direnci, önceleri oldukça düşük seviyelerde iken; günümüzde florokinolon dirençli kampilobakter enfeksiyonlarında hızlı bir artış meydana gelmiştir (23). Florokinolon dirençli kampilobakter enfeksiyonları, florokinolonların (ilk olarak enrofloksasin) besi hayvanı (özellikle kanatlılar) yetiştirmede kullanılması sonucu ortaya çıkmıştır (108). İnsanlardaki *C. jejuni* enfeksiyonlarının en önemli kaynağının kanatlılar olduğu ve florokinolon dirençli *C. jejuni*'lerin kanatlı ürünlerinden izole edildiği bildirilmektedir (23).

2.7.4. Tetrasiklin Grubu Antibiyotikler ve Direnç

Tetrasiklinler bakteriyel ribozoma ulaşmak için makrolidlerde bahsedilen hidrofobik yolu veya dış membran porinlerini kullanarak sitoplazmaya geçerler. Tetrasiklinler dış membran porinlerini geçmek için Mg^{2+} katyonlarını bağlarlar, periplazmik boşlukta magnezyumdan ayrılarak pasif bir şekilde sitoplazmaya aktarılır (108, 134). Makrolidler gibi tetrasiklinler de bakteri ribozomuna etki ederek protein sentezine engel olurlar. Başlangıçta bakteri hücresinde aktif olarak tetrasiklin birikimi olur. Sonrasında tetrasiklinler geri dönüşümlü olarak 70S'lik ribozomun 30S'lik alt ünitesine yüksek affiniteyle bağlanırlar (23, 127). Bu bölgeye bağlanma, ribozom üzerindeki A bölgesi ile aminoasil-tRNA (aa-tRNA) ilişkisini engeller böylece protein sentezinin uzama basamağı durur. Tetrasiklinler, bakteriyostatik etkiye sahiptir (108, 127).

Kampilobakter türlerinde *C. jejuni*'de tetrasiklin direnci tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki hedeflerinin değişmesi ve efluks pompası olmak üzere iki şekildedir (134). Tetrasiklin direncine efluks pompası ve ribozomla ilişkili genleri kapsayan, bakteri cinsleri arasında aktarılan bir grup *tet* determinantı aracılık eder. Tetrasiklin efluksunun mekanizmasında bakteri hücresinden tetrasiklinleri aktif olarak dışarı atan *TetO* gibi membran proteini görev almaktadır (127). Tetrasiklin direnci *C. jejuni* ve *C. coli*'de sık görülmektedir. Kampilobakterlerde ki tetrasiklin direncinde plazmid üzerinde bulunan *tetO* geni önemli rol oynamaktadır (23). TetO geni kromozomlarda ve daha çok *C. jejuni*'deki pTet ve *C. coli*'deki pCC31 gibi plazmidlerde kodlanır (134). *TetO* geni, kanatlı sindirim sistemindeki *C. jejuni* izolatları arasında aktarılmaktadır. Bu plazmid üzerinde bulunan diğer direnç genleri de aynı şekilde aktarılmaktadır (23). *C. jejuni*'deki tetrasiklin direncinin ana mekanizması; bakteriyel protein *TetO*'nun, ribozomal A bölgesine bağlanması ile ribozomal koruma gerçekleşir ve tetrasiklinlerin bağlanması engellenmiş olur (127, 134).

C. jejuni ve *C. coli*'lerde yüksek tetrasiklin direnç oranlarının varlığı veteriner ve beşeri hekimlikte *Campylobacter* spp. aracılı hastalıklarda tetrasiklinlerin kullanımının düşük seviyelerde kalmasını sağlamaktadır (134). Ayrıca kampilobakterlerin dirençli olduğu tetrasiklinler, çiftliklerde antibiyotiklerin kullanımına son verilse bile kanatlı ürünlerinde uzun süreler kalıntı olarak bulunmaktadır (138).

2.7.5. Antibakteriyel Duyarlılık Testleri

Antibiyotik duyarlılık testleri, enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde en uygun antibiyotiğin seçimi amacıyla klinik olgudan izole edilen bakteriler üzerine yapılmaktadır. Bununla birlikte *in vitro* olarak yapılan bu testler, *in vivo* antibakteriyel aktiviteyi tam olarak yansıtmayabilir. Tedavi sonrası elde edilen sonuçlar, laboratuarda tanımlanan izolatin duyarlılık durumunu tam olarak göstermeyebilir (9). Duyarlılık testleri için örnek; en uygun zamanda, steril şartlar altında, hiçbir kemoterapötik madde verilmeden alınmalı ve bozulmadan uygun şekilde saklanarak laboratuara gönderilmelidir (132). Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi için, sıvı dilüsyon, disk difüzyon, agar gradient ve bazı otomatize sistemler gibi standart yöntemler kullanılmaktadır (9, 132).

2.7.5.1.Disk Difüzyon Testi

Günümüzde uygulanması kolay ve nispeten ucuz bir yöntem olarak “Kirby-Bauer disk difüzyon metodu”, teşhis laboratuvarlarının birçoğunda tercih edilmektedir (9, 132). Difüzyon testi, mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal ajanın inhibitör etkilerinin incelenmesinde kullanılmaktadır (139). Bu testte öncelikle hastalık etkeni olarak izole ve identifiye edilmiş mikroorganizmanın selektif olmayan besiyerinde gelişmiş 24 saatlik taze kültürünün tuzlu su içerisinde, McFarland 0,5 bulanıklılıkta süspansiyonu hazırlanır. Disk difüzyon testinde besiyeri olarak 4 mm kalınlıkta hazırlanmış Mueller-Hinton Agar (MHA) kullanılmaktadır (132). Belirli miktarda antibakteriyel madde içeren filtre kâğıdı diskleri, test bakterisi inoküle edilmiş agar üzerine düzenli bir şekilde yerleştirilir. Mikroorganizmanın üreme durumuna göre yaklaşık 18-24 saat inkubasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çapları, milimetre cinsinden ölçülür ve sonuçlar zon büyüklüğünün yorumlanması için hazırlanmış standartlarla karşılaştırılır (9, 132, 140). İnhibisyon zon çapı büyüklüğü; diskteki antibiyotiğin yayılabilme özelliğine, deneyin uygulandığı koşullara ve mikroorganizmanın duyarlılığına bağlıdır. Disk difüzyon testinde ölçülen inhibisyon zon çaplarına bakılarak incelenen mikroorganizmanın diskteki antibiyotiğe karşı durumu; duyarlı, dirençli veya orta duyarlı şeklinde belirtilir (132). Hastalığa neden olan mikroorganizmanın antimikrobiyal ajana duyarlı olması, ilacın etkilenen dokularda terapötik düzeylere

ulaşması durumunda, tedaviden olumlu cevap alınabileceği şeklinde yorumlanmaktadır (9).

2.7.5.2. Dilüsyon Testleri

Dilüsyon testleri, bir antibiyotığın hastalık etkeni mikroorganizmaya göre etkinliğinin ölçülmesi amacıyla yapılır. Dilüsyon testlerinde, öncelikle 10x100 mm ya da 13x100 mm uzunluğunda bir seri tüp hazırlanır (132). Test; bu şekilde tüplerde yapılırsa makrodilüsyon, çok kuyucuklu küçük hacimlerde, özel pleytlerde yapılırsa mikrodilüsyon ismini alır. Mikrodilüsyon kuyucuklarında antibiyotik dilüsyonlarının ticari olarak dondurulmuş ya da dondurulup kurutulmuş olarak bulunmaları, çok sayıda mikroorganizmanın aynı anda çalışılmasına imkan sağlamaktadır. Bu yüzden mikrodilüsyon testi, birçok mikrobiyoloji laboratuvarlarında makrodilüsyon testine göre daha çok tercih edilmektedir (139). Test tüplerine sıvı halde besiyeri, üzerine gittikçe azalan yoğunlukta standardize edilmiş antibiyotik ya da diğer kemoterapötik maddeler ilave edilir. Sonra aynı tüplere özellikleri tümüyle bilinen, Mc Farland 0,5 yoğunlukta bir bakteri süspansiyonundan eşit miktarlarda inoküle edilir. Uygun sıcaklıkta belli bir inkübasyon süresinden sonra içerisinde bakteri üremesi tümüyle durmuş olan tüpün içerdiği kemoterapötik ilaç yoğunluğu, ekimi yapılan bakteri türünün gelişmesini durduran minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak dikkate alınır (131, 140). Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ise bakterinin belirli bir miktarını öldüren en yüksek dilüsyondur (9). MBK'yı belirlemek için seri olarak hazırlanmış, üremenin önlenmiş olduğu tüplerden ayrı ayrı katı besiyerlerine ekim yapılır. Bir gece inkubasyondan sonra petri ler incelenir. Sıvı besiyerinde bulanıklık görülmediği halde yapılan ekimlerde üreme görülmesi, o tüplerde bakteriyostatik etki bulunduğu halde bakterisidal aktivitenin bulunmadığı anlamına gelir. Katı besiyerinde üreme gösteren konsantrasyonlardan en son tüpteki konsantrasyon, o antibiyotığın o mikroorganizma için minimum bakterisidal konsantrasyonunu gösterir (132). Belirtilen yöntemde saptanan yoğunluklar değişik duyarlılıktaki bakteri türlerine göre ayırım gösterdiğinden, bu duyarlılık düzeyi çeşitli türden bakteriler için ayrı ayrı denemelerle saptanabilir (131). Yapılan testler sonucu belirlenen MİK değerinin standartlarda (CLSI gibi) belirtilen MİK değerinden daha yüksek olması, antibakteriyel direnç olarak tanımlanır (141).

2.7.5.3. E (Epsilometer) Test

E-test, mikroorganizmaların antimikrobiklere karşı olan duyarlılıklarını kantitatif olarak ölçen ve MİK değerlerini belirten bir yöntemdir (132). Bu test, agar difüzyon testine benzemekle birlikte, disk difüzyon metodundan antibiyotiğin tek bir konsantrasyonu yerine bir ilaç konsantrasyon eğrisi oluşturmasıyla farklılık gösterir. Bu yöntemde 5x50 veya 60 mm uzunluğunda antimikrobiyalin azalan konsantrasyonlarında emdirilmiş gözeneksiz plastik stripler kullanılmaktadır (132, 139). Antibiyotik konsantrasyonu, 0,002'den 32 mg/L'ye, 0,016'dan 256 mg/L'ye veya 0,064'ten 1024 mg/L'ye kadar değişebilmektedir. Bu konsantrasyon dağılımı, konvansiyonel MİK belirleme yöntemlerinde kullanılan 15 kez dilüe edilmiş sulandırımıdır (132, 139). E-test yönteminde kullanılan besiyeri, MHA'dır. Petri üzerine inoküle edilecek bakteri, selektif olmayan besiyerinde geliştirilmiş ve 24 saatlik taze kültürün tuzlu su içerisinde McFarland 0,5 bulanıklılıkta hazırlanmış süspansiyonundan elde edilmektedir. Farklı organizmalar için farklı süspansiyonlar hazırlanmalıdır. Etest için hazırlanan bakteri inokulumu, 15 dk. içerisinde kullanılmalıdır. Etest stripleri, ilaç aktivitelerini kaybetmemeleri için -20 veya -70 °C'de saklanmalıdır (139). Stripler, mikroorganizma inoküle edilmiş agar pleytlerinin üzerine yerleştirildiklerinde; bunlar üzerinde bulunan değişik konsantrasyonlardaki antibiyotik, difüzyon yoluyla agar yüzeyine yayılmaktadır. Antibiyotiğin inhibitör konsantrasyonda olduğu bölgelerde hiçbir bakteriyel üreme gözlenmezken petrinin geri kalan bölgesinde bakteri gelişimi normal olarak devam etmektedir. Bakteri değişik konsantrasyondaki antibiyotiğe karşı, test stripi çevresinde eliptik üreme inhibisyon zonu oluşturmaktadır. E-test strisinde inhibisyon zonunun kesiştiği nokta MİK olarak kabul edilmektedir (132, 139).

2.7.5.4. Otomatize Sistemler

Son yıllarda bakteri ve mantarların hızlı bir şekilde identifikasyonlarının yanında mikroorganizmaların antimikrobiklere olan dirençlerini de ölçen otomatik mikro yöntemler ve cihazlar geliştirilmiştir (132). *MicroScan WalkAway 40/96S Systems*, *VITEK 1 and VITEK 2 Systems* *BD Phoenix System* gibi geliştirilmiş yöntemler günümüzde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Otomatize sistemlerdeki antibiyotik testlerinin tamamı, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK belirlenmesi temeline dayanmaktadır (139). Bunun için saf kültür halinde üretilmiş bakteri veya mantarların

yöntemine uygun konsantrasyonlarda bir süspansiyonundan içerisinde belirli miktarlarda antimikrobiklerin bulunduğu kaplara, striplere ya da plaklardaki çukurlara ekimi yapılır. Sonuçlar, yöntemine ve incelenen mikroorganizmaya göre 4-24 saat sonra cihaz tarafından otomatik olarak okunmakta ve MİK değerleri ile birlikte değerlendirilerek verilmektedir (132, 139).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmada, 2012 yılı Haziran ayında Kayseri ilindeki 24 farklı market ve tavuk satış yerlerinden 100 paket ve 2013 yılı Ocak ayında Kayseri ilindeki 21 farklı market ve tavuk satış yerlerinden 100 paket olmak üzere iki dönem içerisinde alınan toplam 200 paket tavuk eti örneği (tüm karkas, but, kanat ve göğüs eti) *Campylobacter* spp. izolasyonu amacıyla kullanıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde tavuk eti örneğinin türü ve sayısı

Örnek	Numune Sayısı		Toplam
	Haziran 2012	Ocak 2013	
But	25	25	50
Göğüs	25	25	50
Kanat	25	25	50
Bütün tavuk	25	25	50
Toplam	100	100	200

3.2. Tavuk Etlerinden *Kampilobakter* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplementler ve Diğer Kimyasallar.

İzolasyon amacıyla Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (mCCD) Agar (Oxoid CM739, İngiltere) ve Charcoal Desoxycholate (CCD) Agar Selective Supplement (Oxoid SR155E, İngiltere) kullanıldı (Tablo 3.2.).

Tablo. 3.2. *Kampilobakter* türlerinin izolasyonunda kullanılan besiyeri ve supplement

Besiyeri	Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (mCCD) Agar (Oxoid, CM739, İngiltere)
Supplement	Charcoal Desoxycholate (CCD) Agar Selective Supplement (Oxoid SR155E, İngiltere)

*Kampilobakter*lerin izolasyonu amacıyla, *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid, CM 739, İngiltere) hazır besiyerinden 22,75 g tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde çözdürüldü. pH değeri 7,4±0,2'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. 121 °C'de 15 dk otoklavda sterilizasyonu sağlandıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutuldu ve üzerine 2 ml steril distile su ile süspanse edilmiş Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (CCDA) Selective Supplement (Oxoid, SR155E, İngiltere)'ten eklendi.

Tablo 3.3. *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base içeriği

İçerik	Miktar (g/l)
Nutrient Broth No:2	25,0
Bakteriyolojik kömür	4,0
Kazein hidrolizat	3,0
Sodyum dezoksikolat	1,0
Demir sülfat	0,25
Sodyum piruvat	0,25
Agar	12,0
Distile Su	1000 ml

3.2.1. Kanlı Agar

Blood Agar Base No: 2 (Oxoid, CM 271 B, İngiltere) ticari besiyerinden 40 g tartıldı ve 1 L distile su içerisinde çözdürüldü. pH değeri $7,4 \pm 0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk otoklavda sterilizasyonu sağlandıktan sonra $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu ve üzerine % 7 steril defibrine koyun kanı eklendi. Besiyeri her biri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donmaya bırakıldı. Kullanılincaya kadar $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

Tablo 3.4. Blood Agar Base No: 2 içeriği

İçerik	Miktar (g/l)
Proteoz pepton	15,0
Karaciğer özütü	2,5
Maya ekstraktı	5,0
Sodyum klorür	5,0
Agar	12,0
Distile Su	1000 ml

3.2.2. Gliserinli Brucella Broth

Elde edilen izolatların PZR ile identifikasyonu yapılana kadar uzun süre dondurularak ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda) saklanması için %10'luk gliserinli Brucella Broth hazırlandı. Brucella Broth (Oxoid, CM0169, İngiltere) hazır besiyerinden 2,52 g tartılarak 90 ml distile su içinde çözdürüldü ve üzerine kriyoprotektif amaçlı 10 ml gliserin (Merck, M104091, Almanya) ilave edildi. $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk otoklavda sterilize edildi ve soğumasını takiben buzdolabına kaldırılarak kullanılincaya kadar saklandı.

Tablo 3.5. Brucella Broth içeriği

İçerik	Miktar (g/l)
Enzimatik kazein hidrolizat	10,0
Hayvan dokularının peptik özütü	10,0
Dekstroz	1,0
Maya özütü	2,0
Sodyum klorid	5,0
Sodyum bisülfid	0,1
Distile Su	1000 ml

3.2.3. Katalaz Test Ayıracı

Test ayıracı % 30'luk 3 ml hidrojen peroksit (H_2O_2) (Merck,107209, Almanya), 27 ml distile su ile karıştırılarak testte kullanılmak üzere % 3'lük H_2O_2 solüsyonu hazırlandı.

3.2.4.Oksidaz Test Kiti

Ticari Oksidaz test kitleri (Oxoid, BR 64) kullanıldı.

3.2.5. Triple Sugar Iron (TSI) Agar

H_2S oluşumunun tespitinde kullanılmak üzere hazırlandı. Triple Sugar Iron (TSI) Agar hazır besiyerinden (Oxoid, CM 277, İngiltere) 65 g tartılarak 1 L distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri $7,4\pm 0,2$ 'ye ayarlandı. Su banyosunda kaynatılarak eritildikten sonra sıvı halde iken tüplere 10 ml olacak şekilde dağıtıldı. $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk otoklavda sterilize edildikten sonra yatık agar şeklinde hazırlandı ve $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

Tablo 3.6. Triple Sugar Iron Agar içeriği

İçerik	Miktar (g/l)
Kazein peptonu	15,0
Et peptonu	5,0
Et ekstraktı	3,0
Maya özütü	3,0
Sodyum klorür	5,0
Laktoz	10,0
Sukroz	10,0
D (+) glukoz	1,0
Amonyum demir (III) sitrat	0,5
Sodyum tiyosülfat	0,5
Fenol kırmızısı	0,024
Agar-agar	12,0
Distile Su	1000 ml

3.2.6. Mikroaerobik Ortam Kitleri

Kampilobakterlerin üretilmesi için gerekli mikroaerobik ortam, anaerobik jarlar (Merck, M116387, Almanya) ve içerisine yerleştirilen mikroaerobik ortam sağlayıcı ticari gaz kitleri (Anaerocult C), (Merck, M116275, Almanya) ile oluşturuldu.

3.3. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler

Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) işleminde kullanılan malzemeler Tablo 3.7.'de listelenmiştir.

Tablo 3.7. mPZR işleminde kullanılan sarf malzeme listesi

Malzeme	Stok hacim
Taq DNA polimeraz (Dr. Zeydanlı, DZTQ-5)	500 U
PZR Buffer (Dr. Zeydanlı, DZPBS10-05)	10X
MgCl ₂ (Merck, 105833)	25 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Dr. Zeydanlı, DZ010-S)	10 mM
DNA ekstraksiyon kiti (Ultraclean DNA extraction kit, 50 test Mobio 12224-50, ABD)	

3.3.1. Primer Çiftleri

Çalışmada kullanılan primer çiftleri (Sentromer, İstanbul), beklenen bant büyüklükleri ve yararlanılan kaynaklar Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.8. PZR işleminde kullanılan primer çiftleri ve beklenen bant büyüklükleri

Primer	Baz dizini 5’-3’	Baz büyüklüğü (bp)	Kaynak
Primer-I (CJF)	5’- ACTTCTTTATTGCTTGCTGC – 3’	323 bp	142
Primer-II (CJR)	5’- GCCACAACAAGTAAAGAAGC - 3	323 bp	142
Primer-I (CCF)	5’- GTAAAACCAAAGCTTATCGTG -3’	126 bp	142
Primer-II (CCR)	5’- TCCAGCAATGTGTGCAATG -3’	126 bp	142
Primer-I (CLF)	5’- TAGAGAGATAGCAAAAAGAGA -3’	251 bp	142
Primer-II (CLR)	5’- TACACATAATAATCCCACCC -3’	251 bp	142
23SrRNA-F	5’- TATACCGGTAAGGAGTGCTGGAG-3’	650 bp	142
23SrRNA-R	5’- ATCAATTAACCTTCGAGCACCG -3’	650 bp	142
DMT1 (TetOF)	5’- GGCGTTTTGTTTATGTGCG-3’	559 bp	149
DMT2 (TetOR)	5’- ATGGACAACCCGACAGAAGC-3’	559 bp	149
23SRNA-F	5’-TTAGCTAATGTTGCCCGTACCG-3’	697 bp	151
23SRNA-R	5’-AGCCAACCTTTGTAAGCCTCCG-3’	697 bp	151
ERY2074-R	5’-AGTAAAGGTCCACGGGGTCTGG -3’	485 bp	151
ERY2075-R	5’-TAGTAAAGGTCCACGGGGTTCG-3’	485 bp	151
GZgyrA5	5’-ATTTTTAGCAAAGATTCTGAT- 3’	673 bp	152
GZgyrA6	5’-CCATAAATTATTCACCTGT-3’	673 bp	152
CampyMAMAgryA1-F	5’-TTT TTAGCAAAGATTCTG AT- 3’	265 bp	152-153
CampyMAMAgryA5 R	5’-CAAAGC ATCATAAACTGC AA- 3’	265 bp	152-153
QP1	5’-GATAAAGTTTTTCAGCAAGAGG-3’	593 bp	154
QP2	5’- ATCCAGATCGGCAAAGGTTA-3’	593 bp	154
GZgyrA7	5’- TTATTATAGGTCGTGCTTTG-3’	Sekans	152
GZgyrA8	5’- TAGAAGGTAAAACATCAGGTT-3’	Sekans	152
23SRNA-F	5’-TTAGCTAATGTTGCCCGTACCG-3’	Sekans	151
23SRNA-R	5’-AGCCAACCTTTGTAAGCCTCCG-3’	Sekans	151

3.3.2. TBE Solüsyonu

Tris-Borik Asit-EDTA hazır stok solüsyonu (Thermo Scientific B52, ABD) olarak temin edilen 10X (TBE) 1 L'lik tampon çözelti olarak kullanılmıştır.

3.3.3. Ethidium Bromide

Ethidium Bromid stok solüsyon (Dr. Zeydanlı, DZEB-10, Türkiye) 10 µg/ml olarak temin edilmiş ve 1:9 oranında sulandırılarak 1 µg/ml konsantrasyonda kullanılmıştır.

3.3.4. Agaroz jel

Yüzde 1,5'luk agaroz jel için, 4,5 g agaroz veya % 2'lik agaroz jel için, 6 g agaroz (HyAgarose LE, Vivantis, Malezya) ve 300 ml 0,5X TBE eklenerek mikrodalga fırında 90 sn'lik sürede eritilmiştir. Yaklaşık 50 °C'ye soğutulduktan sonra içerisine 18 µl Ethidium Bromide eklenmiş ve elektroforez tankına dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

3.3.5. Standart Suş

Kampilobakter türlerinin izolasyon, identifikasyon ve PZR işlemleri aşamasında *C. jejuni* NCTC 11168 referans suşu kullanılmıştır.

3.3.6. DNA ekstraksiyon kiti

Kampilobakter izolatlarından genomik DNA ekstraksiyonu amacıyla DNA ekstraksiyon kiti (Ultraclean DNA extraction kit, 50 test Mobio 12224-50, ABD), plazmid DNA ekstraksiyonu amacıyla Plazmid DNA ekstraksiyon kiti (Genedirex MiniPrep Plazmid Ekstraksiyon kiti, 100 test Nevada, ABD) kullanıldı.

3.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Çalışma kapsamında eritromisin (15 µg), azitromisin (15 µg), tilosin (30 µg), enrofloksasin (5 µg), nalidiksik asit (30 µg), levofloksasin (5 µg), siprofloksasin (5 µg), tetrasiklin (30 µg), oksitetrasiklin (30 µg) ve doksisisiklin (30 µg) antibiyotik diskleri (Bioanalyse, Türkiye) ve E test stripleri kullanıldı (Liofilchem, İtalya).

3.5. Sekans Analizi

3.5.1. Kinolon Direnci Sekans Analizi

Kinolon direncinde nokta mutasyonların tespitinde kullanılan MAMA-PCR sonuçlarının doğrulanması amacıyla 5'i dirençli ve 3'ü de duyarlı olmak üzere toplam 8 izolata Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından sekans analizi yapıldı. *C. jejuni* için; GZgyrA7 ve GZgyrA8 primerleri kullanıldı (Sentromer, İstanbul).

3.5.2. Makrolid Direnci Sekans Analizleri

Makrolid direncinde nokta mutasyonların tespitinde kullanılan MAMA-PCR sonuçlarının doğrulanması amacıyla dirençli (6 izolat) ve duyarlı (7 izolat) toplam 13 izolata Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından sekans analizi yapıldı. Bu analiz için; 23SrRNA-F ve 23SrRNA-R primerleri kullanıldı (Sentromer, İstanbul).

3.6. Yöntem

Çalışmada Kayseri ilindeki farklı market ve tavuk satış yerlerinden 2012 yılı Haziran (100 adet) ve 2013 yılı Ocak (100 adet) olmak üzere iki dönem içerisinde alınan toplam 200 paket bütün tavuk, but, kanat ve göğüs eti numuneleri soğuk zincirde Mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi.

3.6.1. *Kampilobakter* Türlerinin İzolasyonu

Tavuk eti örneklerinden *kampilobakter* türlerinin izolasyonunda ISO (ISO, 10272) yöntemi kullanılmıştır. Alınan numuneler 150 ml steril distile suda yıkandı. Elde edilen yıkantı sıvısından swap yardımıyla direkt olarak *Campylobacter* selektif supplement ilave edilmiş CCD agara ekimler yapıldı. Petriler, mikroaerobik ortamda 37 °C’de 72-96 saat inkubasyona tabi tutulduktan sonra besiyerinde üreyen *Campylobacter* spp. şüpheli koloniler, öncelikle koloni morfolojisi açısından değerlendirildi. Modifiye CCD agarda gri-beyaz renkte, metalik röfle veren koloniler seçilerek, Gram boyama, oksidaz testi, katalaz testi ve faz-kontrast mikroskopunda hareket testi uygulandı. Gram boyamada Gram negatif, martı kanadı, spiral şekilli, S ya da virgül görünümünde olan, faz kontrast mikroskopunda hareketli görünen katalaz, oksidaz testleri pozitif olan bakterilerin tümü *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı.

3.6.2. *Campylobacter jejuni* İdentifikasyonu

3.6.2.1. Gram Boyama ve Mikroskopik Muayene

Modifiye CCD agarda gelişen *Campylobacter* spp. şüpheli kolonilere Gram boyama işlemi yapıldı. Mikroskopta (YS2-H, Nikon, Japonya) belirlenen Gram negatif, kıvrık spiral veya martı kanadı görünümündeki mikroorganizmalar değerlendirmeye alındı (5, 143).

3.6.2.2. Hareket Testi

Modifiye CCD agarda gelişmiş kolonilerden bir öze ile alınarak lam üzerine konuldu ve faz kontrast mikroskopunda hareket ve morfoloji yönünden incelendi. Sarmal şekilli, kıvrık ve hızlı hareket pozitif olarak değerlendirildi (5, 143).

3.6.2.3. Katalaz Testi

Taze gelişmiş kolonilerden bir öze dolusu alınarak lam üzerinde bir damla % 3'lük H_2O_2 içinde süspanse edildi. Kısa sürede gaz kabarcıklarının oluşması pozitif reaksiyon olarak kabul edildi (9).

3.6.2.4. Oksidaz Testi

Taze kültürden bir öze dolusu alınarak oksidaz kağıt şeridi üzerine sürüldü. Şeritte mor rengin oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (54, 144).

3.6.3. *Campylobacter* spp. İzolatlarının Muhafazası

Elde edilen izolatlar moleküler identifikasyonları yapılana kadar % 10 gliserin içeren, Brucella Broth bulunan cryotüpler içerisinde $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda (Sanyo, MDF-U5186S, Japonya) saklandılar (5, 143, 144).

3.6.4. *Campylobacter* spp. İzolatlarının mPZR Yöntemi ile İdentifikasyonu

3.6.4.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

Campylobacter spp. izolatlarından DNA ekstraksiyonu amacıyla DNA ekstraksiyon kiti kullanıldı (Ultraclean DNA extraction kit, 50 test Mobio 12224-50, ABD). Ekstraksiyon işlemi üretici firmanın direktifleri doğrultusunda yapıldı. Elde edilen DNA'lar kullanılıncaya kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

Bu amaçla;

1. Bakterinin kanlı agarda $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saatlik saf kültürü elde edildi.
2. Kitde yer alan Microbead tüpleri içerisine 300 μl Microbead solüsyonundan konuldu.
3. Saf kültürden bir öze dolusu bakteri alınarak Microbead tüpleri içerisindeki solüsyonla homojenize edildi.

4. Bu tüplerin üzerine 50 µl MD1 solüsyonundan ilave edildi ve tüplerin vida kapakları sıkıca kapatılarak 10 dk vortekslendi. Bu aşamada mikrobial hücrelerden nükleik asitlerin ayrımı için boncuklar yardımıyla mekanik ve MD1 solüsyonu yardımıyla da kimyasal lizis ortamı sağlandı.
5. Vorteksten alınan microbead tüpler 30 sn 10000xg'de santrifüj edildi (Thermo Micromax RF, ABD).
6. İki ml'lik steril ependorflara MD2 solüsyonundan 100 µl konuldu.
7. Tüplerin üst kısmında kalan süpernatant, MD2 solüsyonu içeren ependorflara transfer edildi ve 5 sn vortekslendi. Daha sonra tüpler +4 °C'de 15 dk süreyle inkube edildi.
8. Buzdolabından çıkarılan tüpler oda ısısında 1 dk 10000xg'de santrifüj edildi.
9. İki ml'lik steril ependorflara 450 µl MD3 solüsyonundan konuldu.
10. Buzdolabından çıkarılan ependorflardan dipteki pelete dokunmadan alınan yaklaşık 200 µl hacmindeki supernatant MD3 solüsyonunu içeren tüplere aktarıldı ve 5 sn vortekslendi.
11. Spin filtre bulunan ependorflar içerisine 650 µl en son karışımdan konuldu ve oda ısısında 30 sn santrifüj edildi. Santrifüj sonunda dip kısımda kalan sıvı atıldı. Bu aşamada filtre membranına sadece DNA'nın bağlanması ve diğer kontaminantların filtreyi geçmesi sağlandı.
12. Spin filtreye tekrar 300 µl MD4 solüsyonundan ilave edildi ve 30 sn 10000xg'de santrifüj edildi.
13. Santrifüj sonunda dip kısımda kalan sıvı tekrar atıldı. Daha sonra spin filtre oda ısısında 10000xg'de 1 dk santrifüj edildi. Bu basamakta santrifüjleme ile MD4 solüsyonunun kalıntıları uzaklaştırıldı.

14. Son olarak spin filtre steril 2 ml'lik tüplere aktarılarak 35 µl MD5 solüsyonundan ilave edildi ve 30 sn 10000xg'de santrifüj edildi. Tüplerden spin filtreler uzaklaştırılarak DNA moleküler çalışmalar için hazır hale gelmiş oldu ve -20 °C'de saklandı.

3.6.4.2. Plazmid DNA Ekstraksiyonu

Campylobacter spp. izolatlarından plazmid DNA'sının ekstraksiyonu amacıyla plazmid DNA ekstraksiyon kiti (Genedirex MiniPrep Plazmid Ekstraksiyon kiti, 100 test Nevada, ABD) kullanıldı. Elde edilen plazmid kökenli DNA'lar çalışılncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Plazmid (Mini Prep Kit Cat No: NA005-0100 Nevada, ABD) ekstraksiyon prosedürü

1. Mikrosantrifüj tüpüne 1,5 ml bakteri kültürü kondu.
2. Santrifüjde 14,000xg'de 1 dk santrifüjlendi, üst kısım atıldı.
3. Pellet, 200 µl Buffer S1 (RNase A ilave edilmiş) ile sulandırıldı.
4. Üzerine 200 µl Buffer S2 ilave edilip 10 dk tüp aşağı yukarı çevrilerek karıştırıldı, vortekslenmeden 2 dk oda sıcaklığında ya da lizat homojen oluncaya kadar bekletildi.
5. Sonra 300 µl Buffer S3 ilave edilip hızlıca vortekslenmeden 10 dk tüp aşağı yukarı çevrilerek karıştırıldı.
6. Santrifüjde 14,000xg'de 3 dk santrifüjlendi.
7. Dikkatli bir şekilde ya da pipet kullanılarak süpernatant PM kolonuna aktarıldı.
8. Santrifüjde 14,000xg'de 30 sn santrifüjlendi aşağı akan sıvı atıldı. PM kolonu aynı tüpe tekrar yerleştirildi.
9. PM kolonun üzerine 400 µl W1 Buffer ilave edildi.
10. Santrifüjde 14,000xg'de 30 sn santrifüjlendi.
11. Aşağı akan sıvı atıldı, PM kolonu aynı tüpe tekrar yerleştirildi.
12. PM kolonun üzerine 600 µl W2 Buffer (60 ml %96-100 etanol ilave edilmiş) ilave edildi.
13. Otuz sn 14,000xg'de santrifüjlendi.
14. Aşağı akan sıvı atıldı, PM kolonu aynı tüpe tekrar yerleştirildi.
15. Kalan W2 Buffer'ı uzaklaştırmak için 14,000xg'de 2 dk yeniden santrifüjlendi.

16. Ürün DNA'yı elde etmek için PM kolonu, temiz bir 1.5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirip tam merkeze gelecek şekilde PM kolonunun üzerine 50-200 µl su veya Buffer E (pH 7 ile 8,5 arası) kondu ve 2dk 14,000xg'de santrifüjlendi. Altta kalan sıvı plazmid DNA'sı olarak elde edildi.

3.6.4.3. Multipleks Polimer Zincir Reaksiyonu (mPZR)

Amplifikasyon 2,5 µl hedef DNA, 5 µl 10x PZR buffer, 1.25U *Taq* polymerase, 0,2 mM dNTP, karışımı, 2 mM MgCl₂, 0,5 µM *C. jejuni* ve *C. lari* primer çifti ve 1 µM *C. coli* ve *C. fetus*, 2 µM *C. upsaliensis* ve 0,2 µM 23S rRNA primerlerini içeren toplam 25 µl hacimde hazırlanan PZR karışımında gerçekleştirildi. DNA amplifikasyonu 95°C'de 6 dk ön denatürasyon ve 30 siklus, 95 °C'de 30 sn, 59 °C'de 30 sn, 72 °C'de 30 sn ve son olarak 72 °C'de 7dk olacak şekilde uygulandı (142).

Amplifikasyon işlemi sonrasında hedeflenen bölgeyi temsil eden büyüklükteki ampliconların varlığını gösterebilmek amacı ile ampliconlar elektrikli ortamda agaroz jel içerisinde seperasyona tabi tutuldu. Bu işlem aşağıdaki şekilde yapıldı;

1. Elektroforez matrisi olarak kullanılmak üzere % 1,5'lik agaroz jel 0,5xTBE solüsyonu ile hazırlandı.
2. Daha iyi homojenizasyon sağlamak amacıyla karışım iki ayrı balonda hazırlandı. İki ayrı balon içerisine tartılarak konulan 2,25'şer gr agaroz üzerine 150'şer ml 0,5xTBE ilave edildi.
3. Karışımlar homojenizasyon sağlanana kadar mikrodalga fırında eritildi.
4. Eritilen agaroz 56 °C'ye ayarlanmış su banyosunda soğutuldu.
5. Eriyik haldeki agaroz içerisine stok solüsyondan 9'ar µl ethidium bromide (% 6 oranında) eklendi.
6. Hazırlanan % 1,5'lik agaroz jel, tarakları yerleştirilmiş jel kalıbının üzerine yavaşça döküldü.
7. Oda sıcaklığında 20-30 dk bekletilerek jel kalıbının katılaşması sağlandı.

8. Taraklar yavaşça çıkarılarak, jel kalıbı elektroforez tankına yerleştirildi. Üzerine bir miktar daha 0,5x TBE ilave edilerek sıvı miktarının belirli bir seviyede olması sağlandı.
9. DNA örneklerinden 5'er µl alınarak parafilm üzerinde 1'er µl loading dye solution ile karıştırıldı. İkinci kuyudan itibaren açılan her kuyuya bu karışımlar konuldu. İlk ve son kuyulara 5'er µl DNA ladder (Fermentas, Litvanya) yüklendi. Kontrol amacıyla 100 bp ladder kullanıldı.
10. Cihazın güç kaynağı 120 Volt, 500 ampere ayarlandı ve 1,5 saat koşturuldu.
11. Jel görüntüleme sisteminde (Vilber-Lourmat, Fransa), UV ışığı altında incelendi.

3.7. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

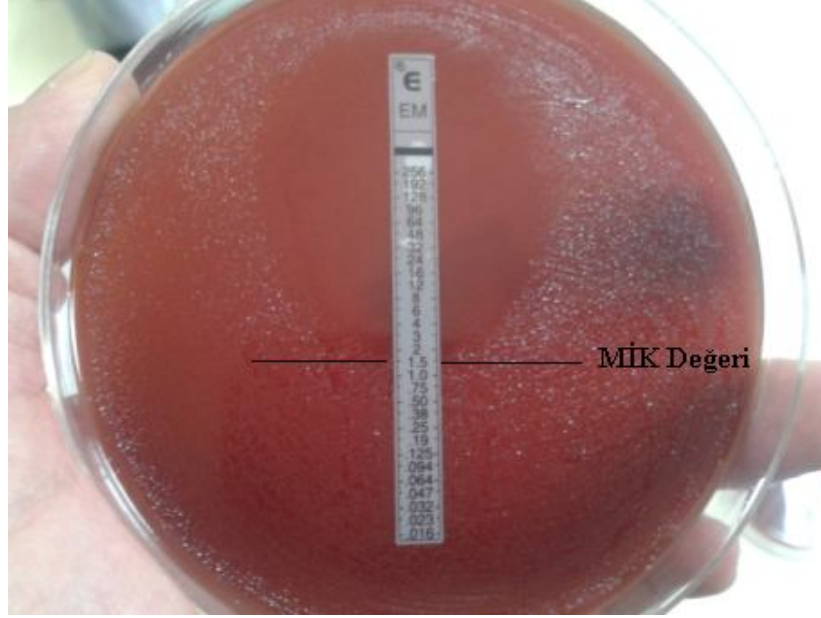
3.7.1. Disk Difüzyon Testi

İzolasyon ve identifikasyon testleri sonunda *C. jejuni* olarak identifiye edilmiş izolatların antibiyotiklere duyarlılıkları, disk difüzyon testi ile belirlendi (145). İzolatlar % 5 defibrine koyun kanlı agarda mikroaerobik ortamda 24-48 saat üretildi ve üreyen koloniler besiyeri üzerinden toplanarak % 0.075 NaCl içinde süspanse edildi. Bakteri yoğunluğu McFarland No. 0,5 turbidite standardına göre ayarlandıktan sonra 0,1 ml besiyerine inoküle edilerek yayıldı ve test diskleri besiyeri üzerine yerleştirildi. Petriler, mikroaerobik ortamda 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Inkubasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek NCCLS.2004 (146) ve NCCLS. 2008 (147) kriterlerine göre değerlendirme yapıldı.

3.7.2. E (Epsilometer) Test

C. jejuni izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK değerleri E-test yöntemi ile belirlendi. *C. jejuni* izolatlarının taze kültürü 0,5 McFarland yoğunluğuna getirilerek % 7 steril defibrine koyun kanı ilave edilmiş kanlı agar yüzeyine eküvyonla yayıldı. Agar yüzeyine E test şeritleri yerleştirildi. Petriler 37° C de 48 saat mikroaerobik ortamda inkübe edildi. Şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin şerit üzerindeki ölçekle kesiştiği nokta MİK değeri olarak kabul edildi (Şekil 3.1.). Belirlenen değerler

kaydedildi. Sonuçların değerlendirilmesinde NCCLS. 2004 (146), NCCLS. 2008 (147) ve CLSI 2010 (148) esas alındı ve izolatlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak nitelendirildi.



Şekil 3.1. Kanlı agarda yapılan E-test yöntemi ve oluşan eliptik inhibisyon zonu

3.8. ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN GENETİK ANALİZİ

3.8.1. Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi

3.8.1.1. Genomik Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi

Genomik tetrasiklin direncinin incelenmesinde *tetO* geninin tespiti için Gibreel ve ark.(149)'nın geliştirdiği PZR reaksiyonu kullanıldı.

Reaksiyon karışımı 0,5'er μM primer (DMT1 ve DMT2 primerleri), 200 μM dNTP'ler, 1x reaksiyon tamponu (50 μM KCl, 10mM Tris-HCl pH 8.3, 1.5mM MgCl_2), 1 U Taq polimeraz ve kalıp DNA'lardan oluşmaktadır. Reaksiyon 23 μl karışıma 2 μl hedef DNA ilave edilerek toplam 25 μl hacimde gerçekleştirildi. Bir dk 95 °C'de ön denatürasyonu takiben 30 siklуста (95 °C 1 dk, 50 °C 1 dk, 72 °C 1 dk) gerçekleştirildi (Touchgene Gradient, Thermal Cycler, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1,5'luk agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez (Thermo EC 330) işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150).

3.8.1.2. Plazmid Aracılı Tetrasiklin Direncinin İncelenmesi

Plazmid aracılı tetrasiklin direncinin incelenmesinde *tetO* geninin tespiti için Gibreel ve ark.(149)'nın geliştirdiği PZR reaksiyonu uygulandı.

PZR işleminde reaksiyon karışımı 0,5'er μ M primer (DMT1 ve DMT2 primerleri), 200 μ M dNTP'ler, 1x reaksiyon tamponu (50 μ M KCl, 10mM Tris-HCl pH 8.3, 1.5mM $MgCl_2$), 1 U Taq polimeraz ve kalıp DNA'lardan oluşmaktadır. Reaksiyon 23 μ l karışıma 2 μ l hedef DNA ilave edilerek toplam 25 μ l hacimde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu; 1 dk 95°C de ön denatürasyonu takiben 30 siklusta (95 °C 1 dk, 50 °C 1 dk, 72 °C 1 dk) gerçekleştirildi (Touchgene Gradient, Thermal Cyclers, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1,5'luk agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez (Thermo EC 330) işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150).

3.8.2. Makrolid Direncinin İncelenmesi

Makrolid direncinin incelenmesinde ERY2074 ve ERY2075 mutasyonlarının tespiti için Alonso ve ark.(151)'nin geliştirdiği PCR reaksiyonu uygulandı.

PCR reaksiyon karışımı içinde; 1xPCR tamponu (10 mM Tris-HCl, 1,5 mM $MgCl_2$, 50 mM KCl, pH 8,3), 80 ng genomik DNA, 0,2'er μ M primerler, 0,2 mM DNTP'ler ve 1 U Taq polimeraz içeren 20 μ l karışıma 5 μ l hedef DNA ilave edilerek toplam 25 μ l hacimde gerçekleştirildi.

İlk olarak ERY2074 primeri ile daha sonra da ERY2075 primeri ile gerçekleşen iki aşamalı PZR reaksiyonlarında 94 °C’de 5 dk ön denatürasyon, 94 °C’de 30 saniye, 59 °C’de 30 saniye ve 72 °C’de 45 saniyelik 30 siklus, ve 72 °C’de 5 dk’lık son uzama basamakları uygulandı (Touchgene Gradient, Thermal Cyclers, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 2’lik agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150). PZR ürünleri agaroz jel elektroforez sonrasında ethidium bromid ile boyanarak izlendi.

3.8.3. Kinolon Direncinin İncelenmesi

3.8.3.1. Kinolon Direncini Belirleyen Bölgenin (QRDR) gösterilmesi

Kinolon direncinin ortaya çıkarılmasında ilk olarak *gyrA* geninin bulunduğu QRDR’nin gösterilmesi amacıyla PZR reaksiyonu uygulandı (152). PZR işleminde reaksiyon karışımı 20’şer pmol primer (GZgyrA5 ve GZgyrA6 primerleri), 200 µM dNTP’ler, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 2,5 U Taq polimeraz ve kalıp DNA’lardan oluşmaktadır. Reaksiyon 95 µl karışıma 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 100 µl hacimde gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu; 3 dk 94 °C de ön denatürasyonu takiben 30 siklusta (94 °C 1 dk, 50 °C 1 dk, 72 °C 1 dk), 72 °C’de 5 dk’da son uzama basamağı şeklinde gerçekleştirildi (Touchgene Gradient, Thermal Cyclers, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1,5’lik agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150).

3.8.3.2. Genomik Kinolon Direncinin İncelenmesi

Genomik kinolon direncinin incelenmesinde *C. jejuni*’nin *gyrA* genindeki mutasyonların tespiti için çeşitli modifikasyonlar yapılarak (152, 153) MAMA-PZR reaksiyonu uygulandı.

PZR işleminde reaksiyon karışımı 20'şer pmol primer (CampyMAMAgyrA1 ve CampyMAMAgyrA5 primerleri), 200 µM dNTP'ler, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 2,5 U Taq polimeraz ve kalıp DNA'lardan oluştu. Reaksiyon 45 µl karışıma 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 50 µl hacimde gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu; 3 dk 94 °C de ön denatürasyonu takiben 30 siklуста (94 °C 30 saniye, 58 °C 30 saniye, 72 °C 30 saniye), 72 °C'de 3 dk'da son uzama basamağı şeklinde gerçekleştirildi (Touchgene Gradient, Thermal Cycler, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 2'lik agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150).

3.8.3.3. Plazmid Aracılı Kinolon Direncinin İncelenmesi

C. jejuni izolatlarında plazmid ile taşınan kinolon direnç geni *qnr* PZR ile araştırıldı (154). PZR işleminde reaksiyon karışımı 20'şer pmol primer (QP1 ve QP2 primerleri), 200 µM dNTP'ler, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 2,5 U Taq polimeraz ve kalıp DNA'lardan oluşmaktadır. Reaksiyon 45 µl karışıma 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 50 µl hacimde gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu; 30 siklуста, 94 °C 1 dk, 57 °C 30 saniye, 72 °C 1 dk şeklinde gerçekleştirildi (Touchgene Gradient, Thermal Cycler, İngiltere).

Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1'lik agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi kullanılarak görüntülendi. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Litvanya) kullanıldı (150).

3.8.4. Sekans Analizi

İzolatlardan ticari firmanın tarifine uygun şekilde genomik DNA ekstraksiyon kiti ile DNA izolasyonu yapıldı. Kinolon direnci için *C. jejuni* izolatları; GZgyrA5, GZgyrA6, primerleri ile amplifiye edildi, 673 bp büyüklüğündeki bantlar görüldü ve GZgyrA7 ve GZgyrA8 primerleri kullanılarak sekanslandı. Makrolid direncinde ise 23SrRNA-F ve

23SrRNA-R primerleri ile amplifiye edildi, 697 bp büyüklüğündeki bantlar görüldü ve 23SrRNA-F ve 23SrRNA-R primerleri kullanılarak sekanslandı.

PZR işleminde reaksiyon karışımı 1'er µL primer (CampyMAMAgryA1 ve CampyMAMAgryA5 primerleri), 200 µM dNTP'ler, 2,5 µL MgCl₂ (25mM), 2,5 U Taq polimeraz, 2,5 µL PCR reaction buffer (10X) ve 5µL kalıp DNA'lardan oluştu. Reaksiyon 20 µl karışıma 5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu; 4 dk 94 °C de ön denatürasyonu takiben 35 siklusta (94 °C 30 saniye, 58 °C 30 saniye, 72 °C 1 dakika), 72 °C'de 6 dk'da son uzama basamağı şeklinde gerçekleştirildi (155). Amplifikasyon sonucu elde edilen PZR ürünleri % 1,5'lik agaroz jelde, 120 Voltta 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi kullanılarak görüntülendi.

Amplifiye edilen PZR ürünleri QIAquick PCR purification kit kullanılarak saflaştırıldı ve BigDye Direct Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kullanılarak üretici firmanın tarifine uygun bir biçimde sekanslandı. Sekans siklusu sonunda ampikonlar Sephadex G-50 (Sigma-Aldrich) ile saflaştırılıp, Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)'de sekanslandı. Tüm sekanslar, Sequencing Analysis version 5,3 ile analiz edildi ve BLAST ile GenBank'da referans sekanslarla karşılaştırıldı.

3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmada istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 14.01 (Serial: 9869264) paket programı kullanıldı. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine göre elde edilen niteliksel verilerin istatistiksel karşılaştırmasında Ki-kare (X^2) testi kullanıldı (156).

4. BULGULAR

4.1. Fenotipik Test Sonuçları

Haziran 2012 döneminde alınan 100 adet örneğin 81'i (% 81) fenotipik testlerle *Campylobacter* spp. yönünden pozitif olarak tespit edildi. Bu 81 pozitif örnekten 124 adet *Campylobacter* spp. izolatu elde edildi. Ocak 2013 döneminde 100 adet örneğin 77'si (% 77) *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Bu 77 örnekten 109 adet *Campylobacter* spp. izolatu elde edildi (Tablo 4.1.). Ayrıca, Haziran 2012 dönemine ait 10 (% 10) ve Ocak 2013 dönemine ait 8 (% 8) örnekte birden fazla kampilobakter türü aynı örnekte eşzamanlı olarak izole edildi. İzolatlar etiketlendikten ve sıra numarası verildikten sonra -85°C'de derin dondurucuda (Sanyo, Japonya) % 10'luk gliserinli Brucella buyyonda saklandı. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde *Campylobacter* spp. görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (X^2 : 0,482; $P>0,05$).

Tablo 4.1. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde alınan örneklerden *Campylobacter* spp. izolasyon sonuçları

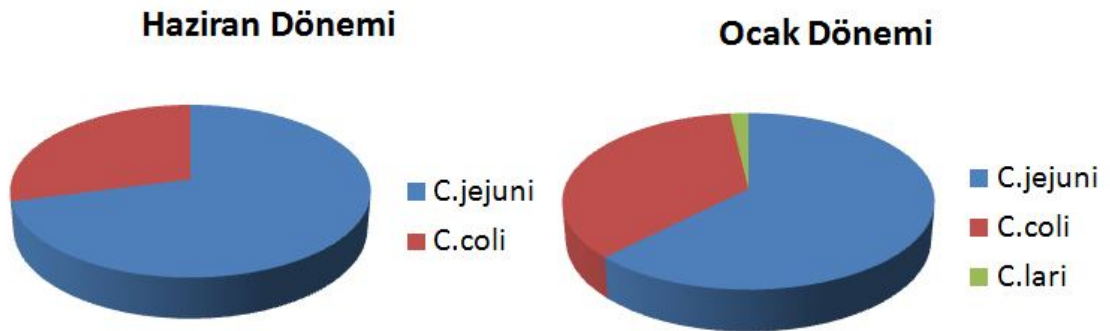
Dönemler	İncelenen Örnek Sayısı	<i>Campylobacter</i> spp. Pozitif		Elde Edilen <i>Campylobacter</i> spp. İzolat Sayısı
		Örnek Sayısı	%	
Haziran 2012	100	81	81	124
Ocak 2013	100	77	77	109

4.2 Multipleks PZR Sonuçları

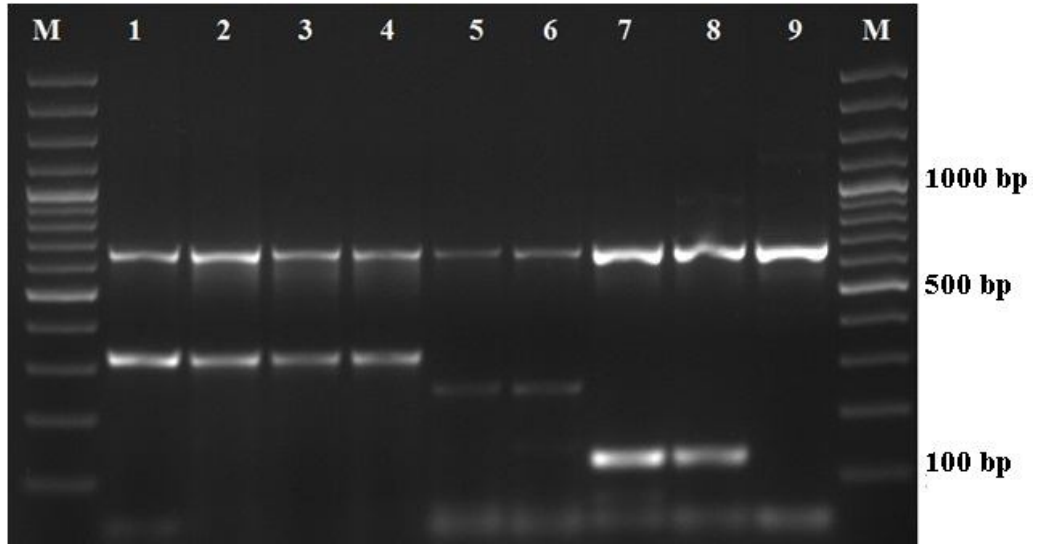
Yapılan mPZR testleri (Şekil 4.2.) sonunda Haziran 2012 dönemine ait 124 izolattın, 88'i *C. jejuni*, 36'sı *C.coli* olarak tespit edilirken (Şekil 4.1.), Ocak 2013 dönemine ait 109 izolattın, 68'i *C. jejuni*, 39'u *C. coli* ve 2'si de *C.lari* olarak tespit edildi (Tablo 4.2.). Haziran 2012 ve Ocak 2013 aylarında *Campylobacter* spp. izolatları arasında *C. jejuni* görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (χ^2 : 1,93; $P>0,05$).

Tablo 4.2. Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (mPZR) ile identifikasyon sonuçları

Tür Dağılımı	Dönemi	
	Haziran 2012 (%)	Ocak 2013 (%)
<i>C. jejuni</i>	88 (70,9)	68 (62,4)
<i>C. coli</i>	36 (29,1)	39 (35,8)
<i>C. lari</i>	-	2 (1,8)
Toplam	124	109



Şekil 4.1. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait identifikasyon grafikleri



Şekil 4.2. *Campylobacter* spp. izolatlarının mPZR sonuçlarının % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M:100 bp DNA ladder, 1, 2, 3, 4: *C. jejuni* izolatları (323 bp), 5,6: *C. lari* izolatları (251 bp), 7,8: *C. coli* izolatları (126 bp), 9: Genus pozitif tür negatif örnek (650 bp).

4.3. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları

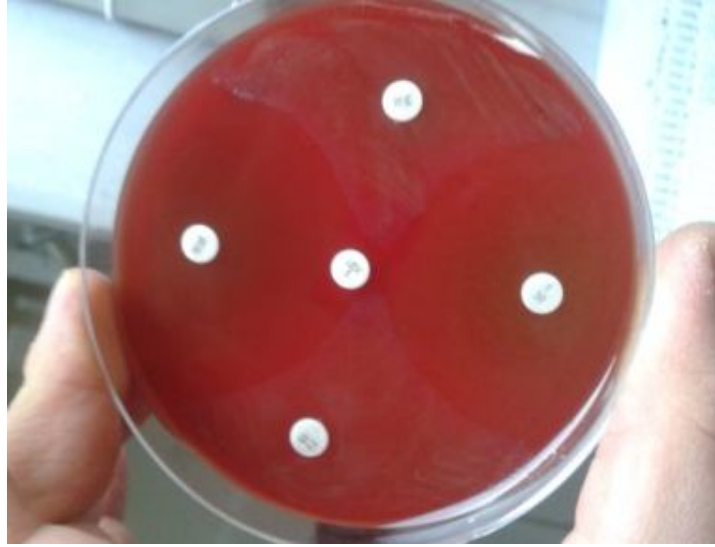
Haziran 2012 dönemine ait 88 ve Ocak 2013 dönemine ait 68 *C. jejuni* izolatının disk difüzyon testi (Şekil 4.3.) sonuçları Tablo 4.3.'te gösterildi. Buna göre direnç oranları Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemleri için sırasıyla nalidiksik asit (% 78,4-% 92,6), siprofloksasin (% 67,1-% 86,7), tetrasiklin (% 55,6-% 64,7), enrofloksasin (% 58-% 61,8), levofloksasin (% 54,5-% 64,7), tilosin (% 40,9-% 47,1), oksitetrasiklin (% 40,9-% 39,7), eritromisin (% 11,3-% 4,4), doksisisiklin (% 2,2-% 1,4), azitromisin (% 1,1-% 4,4) olarak tespit edildi.

Tablo 4.3. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Test Edilen Antibiyotik	Dönemler	S (%)	I (%)	R (%)	X ² değeri	P değeri
Eritromisin	Haziran*	58 (65,9)	20 (22,7)	10 (11,4)	2,893	P>0,05
	Ocak**	45 (66,2)	20 (29,4)	3 (4,4)		
Azitromisin	Haziran*	87 (98,9)	0 (0)	1 (1,1)	1,647	P>0,05
	Ocak**	65 (95,6)	0 (0)	3 (4,4)		
Tilosin	Haziran*	4 (4,5)	48 (54,5)	36 (40,9)	2,262	P>0,05
	Ocak**	6 (8,8)	30 (44,1)	32 (47,1)		
Enrofloksasin	Haziran*	19 (21,6)	18 (20,5)	51 (58,0)	6,816	P<0,05
	Ocak**	5 (7,4)	21 (30,9)	42 (61,8)		
Nalidiksik asit	Haziran*	17 (19,3)	2 (2,3)	69 (78,4)	7,634	P<0,05
	Ocak**	3 (4,4)	2 (2,9)	63 (92,6)		
Levofloksasin	Haziran*	31 (35,2)	9 (10,2)	48 (54,5)	2,497	P>0,05
	Ocak**	16 (23,5)	8 (11,8)	44 (64,7)		
Siprofloksasin	Haziran*	23 (26,1)	6 (6,8)	59 (67,0)	9,565	P<0,01
	Ocak**	5 (7,4)	4 (5,9)	59 (86,8)		
Tetrasiklin	Haziran*	38 (43,1)	1 (1,1)	49 (55,6)	6,817	P<0,05
	Ocak**	19 (27,9)	5 (7,3)	44 (64,7)		
Oksitetrasiklin	Haziran*	40 (45,5)	12 (13,6)	36 (40,9)	0,894	P>0,05
	Ocak**	28 (41,2)	13 (19,1)	27 (39,7)		
Doksisiklin	Haziran*	76 (86,4)	10 (11,4)	2 (2,3)	0,870	P>0,05
	Ocak**	62 (91,2)	5 (7,4)	1 (1,5)		

*: n= 88, **: n=68, **S:** Duyarlı, **I:** Orta duyarlı, **R:** Dirençli, **X²:** Kikare testi, **P:** İstatistiksel anlamlılık

Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında test edilen antibiyotiklerden eritromisin, azitromisin, tilosin, levofloksasin, oksitetrasiklin ve doksisikline karşı duyarlılık açısından fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (P>0,05). Ancak Haziran 2012 dönemine ait *C. jejuni* izolatlarının Ocak 2013 dönemindeki izolatlara göre enrofloksasin, nalidiksik asit, tetrasiklin (P<0,05) ve siprofloksasin (P<0,01) antibiyotiklerine karşı istatistiksel olarak önemli derecede duyarlı oldukları tespit edildi.



Şekil 4.3. Kanlı agarda yapılan disk difüzyon testi ve oluşan inhibisyon zonu

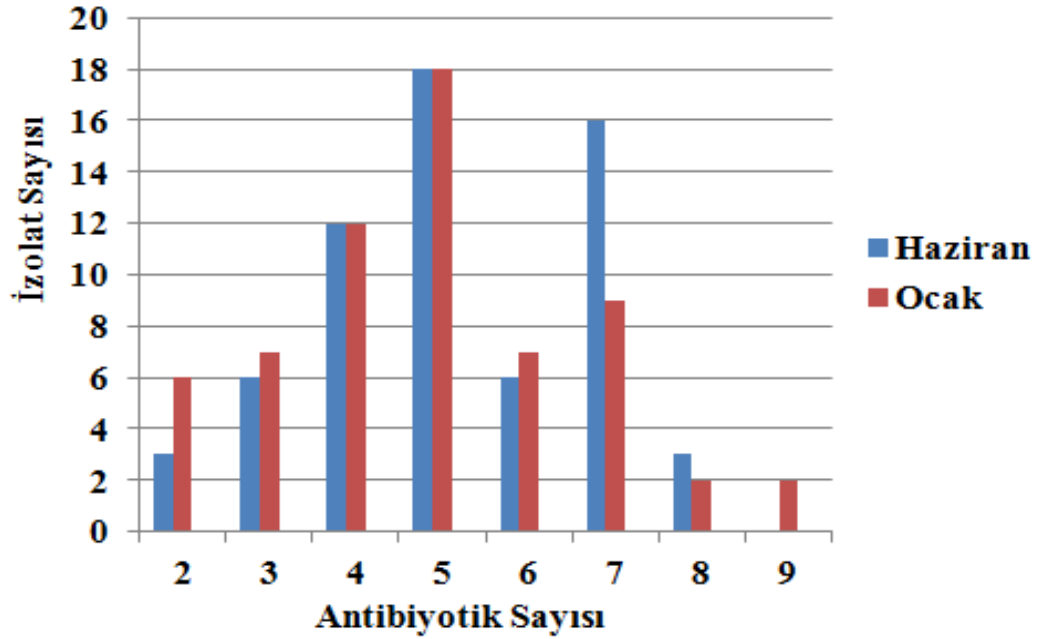
Çalışmada, iki veya daha fazla antibiyotiğe karşı direnç gösteren izolatlar, “çoklu antibiyotik dirençli izolatlar” olarak kabul edildi. Çoklu antibiyotik direnç durumu Tablo 4.4.’de gösterildi.

Disk difüzyon testi sonucunda Haziran 2012 dönemi izolatlarının 64’ü ve Ocak 2013 dönemi izolatlarının 63’ünde çoklu ilaç direnci tespit edildi (Tablo 4.4.). İzolatların büyük bir kısmında 36/156 (% 23,1), beş farklı antibiyotiğe karşı direnç gözlemlendi. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait toplam 9 izolat iki farklı antibiyotiğe, 13 izolat üç farklı antibiyotiğe, 24 izolat dört farklı antibiyotiğe, 36 izolat beş farklı antibiyotiğe, 13 izolat altı farklı antibiyotiğe, 25 izolat yedi farklı antibiyotiğe, 5 izolat sekiz farklı antibiyotiğe karşı dirençli saptandı. Ocak 2013 dönemine ait iki izolat test edilen 10 antibiyotiğin 9’una karşı dirençli olarak tespit edildi (Şekil 4.4.). Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında çoklu antibiyotik direnç oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (χ^2 : 3,603; $P>0,05$).

Tablo 4.4. *C. jejuni* izolatlarının çoklu antibiyotik direnç durumu

Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı	Çoklu Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Dirençli izolat sayısı	
		Haziran 2012	Ocak 2013
2	NA, CIP	2	2
2	E, LEV	1	-
2	T, TY	-	1
2	CIP, LEV	-	1
2	NA, TE	-	2
3	T, NA, TE	1	-
3	CIP, ENR, NA	3	3
3	CIP, NA, LEV	1	-
3	CIP, NA, TE	1	3
3	NA, TE, LEV	-	1
4	CIP, ENR, NA, TE	4	1
4	CIP, ENR, NA, LEV	4	5
4	CIP, NA, TE, TY	1	1
4	CIP, T, NA, TE	2	3
4	CIP, NA, LEV, TY	1	-
4	CIP, NA, TE, LEV	-	2
5	CIP, ENR, NA, TE, LEV	2	3
5	CIP, ENR, NA, LEV, TY	7	7
5	CIP, T, NA, TE, LEV	3	5
5	CIP, ENR, T, NA, TE	3	2
5	E, ENR, NA, LEV, TY	2	-
5	E, ENR, NA, TE, LEV	1	-
5	CIP, T, NA, TE, TY	-	1
6	CIP, ENR, T, NA, TE, LEV	2	3
6	CIP, ENR, NA, TE, LEV, TY	2	2
6	CIP, T, NA, TE, LEV, TY	1	2
6	E, ENR, T, NA, TE, LEV	1	-
7	CIP, ENR, T, NA, TE, LEV, TY	14	9
7	E, ENR, T, NA, TE, LEV, TY	2	-
8	CIP, DO, ENR, T, NA, TE, LEV, TY	2	1
8	AZM, CIP, E, ENR, T, NA, TE, TY	1	-
8	AZM, CIP, E, T, NA, TE, LEV, TY	-	1
9	AZM, CIP, E, ENR, T, NA, TE, LEV, TY	-	2

AZM: Azitromisin, CIP: Siprofloksasin, DO: Doksisiklin, E: Eritromisin, ENR: Enrofloksasin, LEV: Levofloksasin, NA: Nalidiksik asit, T: Oksitetrasiklin, TE: Tetrasiklin, TY: Tilosin



Şekil 4.4. *C. jejuni* izolatlarında gözlenen çoklu antibiyotik direnç grafiği

Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemi izolatlarına ait MİK sonuçları Tablo 4.5. ve 4.6.'da gösterildi. E-test sonuçlarının disk difüzyon testi sonuçları ile uyumlu olduğu ortaya çıktı. E-test sonunda, disk difüzyon testi ile dirençli olarak bulunan izolatların tamamı aynı şekilde dirençli olarak bulundu. Kinolon grubu antibiyotikler için Haziran 2012 dönemi dirençli izolatlarının MİK dağılımları, nalidiksik asit için ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$, enrofloksasin için ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$, siprofloksasin için ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ $\mu\text{g/ml}$ ve levofloksasin için ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$ $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunurken; Ocak 2013 dönemi dirençli izolatlarında nalidiksik asit için ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$, enrofloksasin için ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$, siprofloksasin için ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ $\mu\text{g/ml}$ ve levofloksasin için ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$ $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edildi. Makrolid grubu antibiyotikler için Haziran 2012 dönemi dirençli izolatlarının MİK dağılımları eritromisin (≥ 32 $\mu\text{g/ml}$), ve azitromisin (≥ 32 $\mu\text{g/ml}$) bulunurken; Ocak 2013 dönemi dirençli izolatları için eritromisin (≥ 128 $\mu\text{g/ml}$), ve azitromisin (≥ 32 $\mu\text{g/ml}$) olarak tespit edildi. Tetrasiklin grubu antibiyotikler için Haziran 2012 dönemi izolatlarının MİK dağılımları tetrasiklin (≥ 16 $\mu\text{g/ml}$), oksitetrasiklin (≥ 16 $\mu\text{g/ml}$) ve doksisiklin (≥ 8 $\mu\text{g/ml}$) bulunurken; Ocak 2013 dönemi izolatları için tetrasiklin (≥ 16 $\mu\text{g/ml}$), oksitetrasiklin (≥ 16 $\mu\text{g/ml}$) ve doksisiklin (≥ 256 $\mu\text{g/ml}$) olarak tespit edildi.

Tablo 4.5. Haziran 2012 dönemi *C. jejuni* izolatlarına ait MİK değerleri ve dağılımı

Antimikrobiyal Madde	Sayı (N)	MİK Aralığı			0,002	0,004	0,016	0,064	0,125	0,25	0,38	0,50	0,75	1	1,5	2	3	4	8	12	16	32	64	128	256
		S	I	R																					
Enrofloksasin	61	≤0,25	0,5-1	≥ 2						1		1	3	5		3	2	3	7	8	13	15			
Siprofloksasin	69	≤ 1	2	≥ 4									1	2		7		11	6	8	15	19			
Levofloksasin	58	≤ 2	4	≥ 8						1		1			1	1		6	11	17	11	9			
Tetrasiklin	59	≤ 4	8	≥ 16										1		1		1	6		5	6	10	8	21
Oksitetrasiklin	46	≤ 4	8	≥ 16														2	7		1	12	7	12	5
Doksisiklin	12	≤ 2	4	≥ 8												2		6	1			1		1	1
Eritromisin	20	≤ 8	16	≥ 32							1		1	1	1				3		3	2		3	5
Nalidiksik asit	79	≤ 16	-	≥ 32							1	1	1	1	2	2		4	3	2	3	8	11	17	23
Azitromisin	11	≤ 2	4	≥ 8								1	1	2	1	2						1	3		

N: İncelenen izolat sayısı, **S:** Duyarlı, **I:** Orta duyarlı, **R:** Dirençli

Tablo 4.6. Ocak 2013 dönemi *C. jejuni* izolatlarına ait MİK değerleri ve dağılımı

Antimikrobiyal	Sayı	MİK Aralığı			0,002	0,004	0,016	0,064	0,125	0,25	0,38	0,50	0,75	1	1,5	2	3	4	8	12	16	32	64	128	256
Madde	(N)	S	I	R																					
Enrofloksasin	52	≤0,25	0,5-1	≥ 2				1	1	1		3	1	2		1	3	2	8	7	10	12			
Siprofloksasin	69	≤ 1	2	≥ 4						1	1		1	1		7		9	8	8	15	18			
Levofloksasin	54	≤ 2	4	≥ 8										1	1	2		6	12	9	10	13			
Tetrasiklin	54	≤ 4	8	≥ 16										1		2		1	6		5	3	11	9	16
Oksitetrasiklin	37	≤ 4	8	≥ 16								1		1		1		5	2		1	6	4	7	9
Doksisiklin	11	≤ 2	4	≥ 8								2	1	2	1	3		1							1
Eritromisin	13	≤ 8	16	≥ 32							1	1	2	2	1				3				2	1	
Nalidiksik asit	73	≤ 16	-	≥ 32				1	1	2	1	1	1	1	1			1		2	1	7	11	22	20
Azitromisin	13	≤ 2	4	≥ 8						1		1	1	1	1	3		2				1	1		1

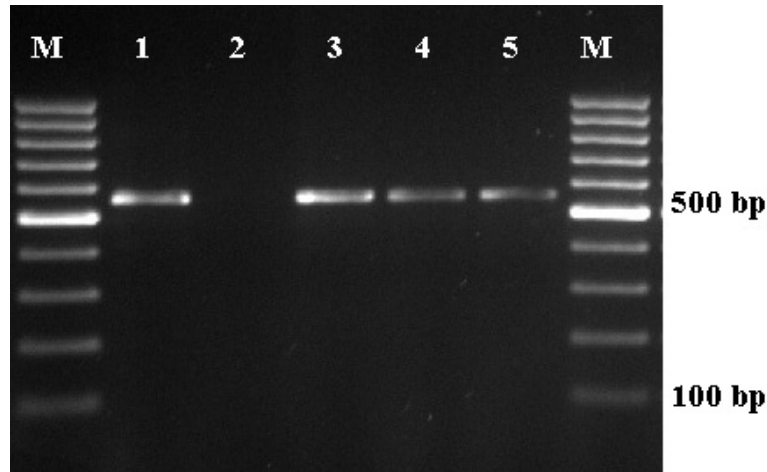
N: İncelenen izolat sayısı, **S:** Duyarlı, **I:** Orta duyarlı, **R:** Dirençli

4.4. Genomik Tetrasiklin Direnç Durumunun İncelenmesi

C. jejuni'nin genomik tetrasiklin direnci ilgili PZR (Şekil 4.5.) sonuçları Tablo 4.7.'de gösterildi. Test sonucunda Haziran 2012 dönemine ait izolatların 44 (% 88)'ünde, Ocak 2013 dönemine ait izolatların ise 42 (% 85,7)'sinde *tetO* geninin varlığı gösterildi. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında genomik *tetO* geni bulunma oranları arasındaki fark önemli bulunmadı (X^2 : 0,113; $P>0,05$).

Tablo 4.7. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait genomik *tetO* geni PZR sonuçları

Dönemler	Numune Sayısı	Pozitif sonuç (%)	Negatif sonuç (%)
Haziran 2012	50	44 (88)	6 (12)
Ocak 2013	49	42 (85,7)	7 (14,2)
Toplam	99	86 (86,8)	13 (13,2)



Şekil 4.5. Genomik tetrasiklin direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M:100 bp DNA ladder, 2: Negatif kontrol (steril distile su), 1, 3, 4, 5: Pozitif örnekler (559 bp).

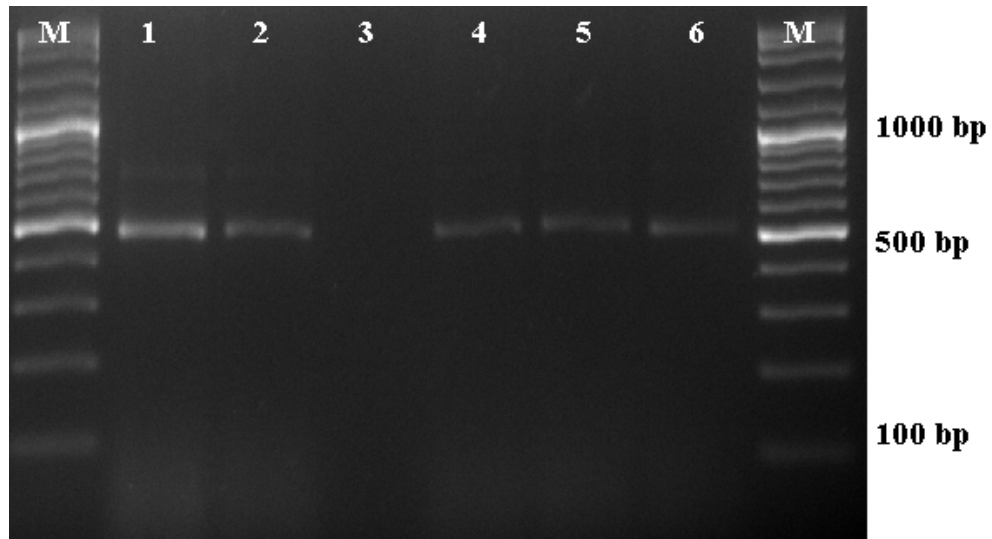
4.5. Makrolid Direnç Durumunun İncelenmesi

C. jejuni'nin makrolid direnci ile ilgili PZR sonuçları Tablo 4.8.'de gösterildi. Her iki döneme ait *C. jejuni* izolatlarında A2074C mutasyonuna rastlanmazken; Haziran 2012 dönemine ait 7 (% 18,4) ve Ocak 2013 dönemine ait 4 (% 14,8) izolatta A2075G

mutasyonu tespit edildi. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında A2075G mutasyonu bulunma oranları arasındaki fark önemli bulunmamıştır (X^2 : 0,146; $P>0,05$).

Tablo 4.8. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait makrolid direnci PZR sonuçları

Dönemi	Mutasyon	Numune sayısı	Pozitif sonuç (%)	Negatif sonuç (%)
Haziran 2012	2074	38	0 (0)	38 (100)
	2075	38	7 (18,4)	31 (81,6)
Ocak 2013	2074	27	0 (0)	24 (100)
	2075	27	4 (14,8)	23 (85,1)



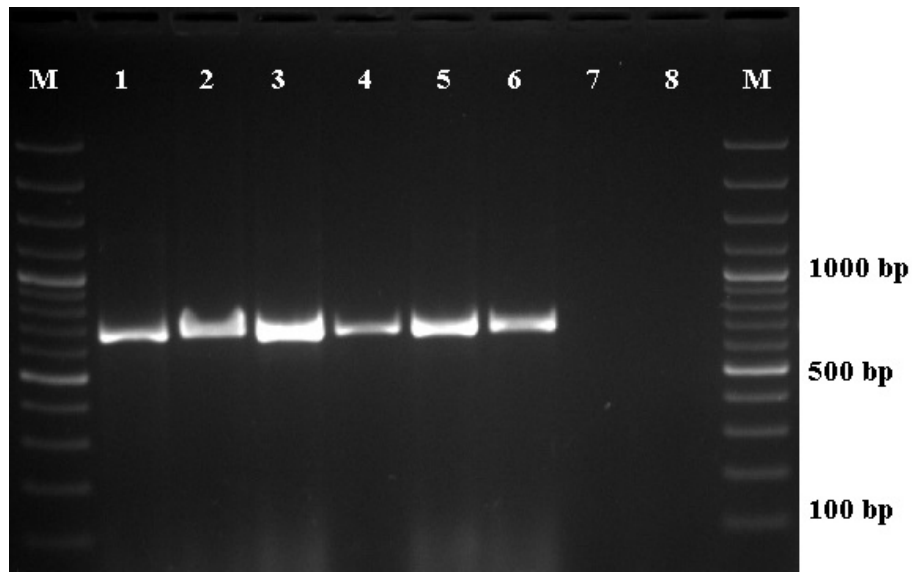
Şekil 4.6. Makrolid direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. 1, 2, 4, 5, 6: Pozitif örnek (485 bp). M:100 bp DNA ladder. 3: Negatif kontrol (steril distile su).

4.6. Kinolon Direncini Belirleyen Bölgenin (QRDR) Gösterilmesi

C. jejuni izolatlarına ait QRDR'si PZR ile gösterildi (Şekil 4.7.) ve sonuçlar Tablo 4.9.'da verildi. PZR testleri sonunda Haziran 2012 dönemine ait 64 (% 87,6) ve Ocak 2013 dönemine ait 60 (% 90,9) izolatın QRDR varlığı yönünden pozitif olduğu saptandı. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında QRDR bulunma oranları arasındaki fark önemli bulunmamıştır (X^2 : 0,377; $P>0,05$).

Tablo 4.9. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde QRDR'nin gösterilmesi

Dönemler	Numune Sayısı	Pozitif sonuç (%)	Negatif sonuç (%)
Haziran 2012	73	64 (87,6)	9 (12,3)
Ocak 2013	66	60 (90,9)	6 (9,1)
Toplam	139	124 (89,2)	15 (10,8)

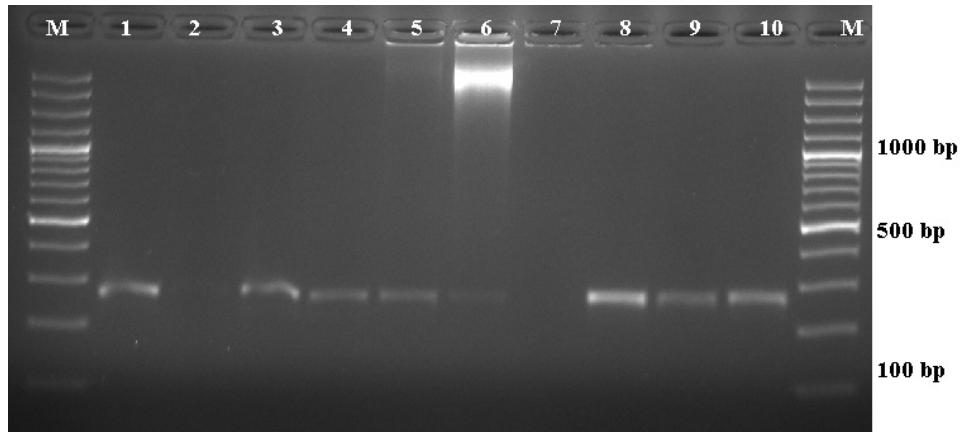
**Şekil 4.7.** QRDR'nin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M:100 bp DNA ladder, 1, 2, 3, 4, 5, 6: Pozitif örnek (673 bp), 7: Negatif kontrol (steril distile su), 8: Negatif örnek

4.7. Genomik Kinolon Direncinin İncelenmesi

Genomik kinolon direnci ile ilgili PZR (Şekil 4.8.) sonuçları Tablo 4.10.'da gösterildi. PZR testleri sonunda Haziran 2012 dönemine ait 61 (% 83,5) ve Ocak 2013 dönemine ait 54 (% 81,8) olmak üzere toplam 115 izolatin pozitif olduğu tespit edildi. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında kinolon direncine neden olan *gyrA* geni üzerindeki mutasyonun bulunma oranları arasındaki fark önemli bulunmadı (X^2 : 0,074; $P>0,05$).

Tablo 4.10. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait genomik kinolon direnci PZR sonuçları

Dönemler	Numune Sayısı	Pozitif sonuç (%)	Negatif sonuç (%)
Haziran 2012	73	61 (83,5)	12 (16,4)
Ocak 2013	66	54 (81,8)	12 (18,1)
Toplam	139	115 (82,7)	24 (17,3)



Şekil 4.8. Genomik kinolon direncinin % 2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M:100 bp DNA ladder, 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10: Pozitif örnek (265 bp), 2: Negatif kontrol (steril distile su), 7: Negatif örnek.

4.8. Plazmid Aracılı Kinolon Direncinin İncelenmesi

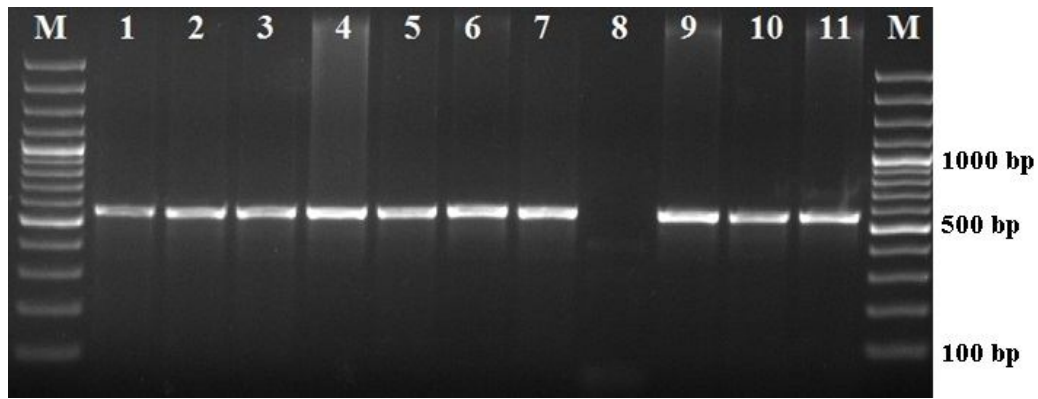
C. jejuni izolatlarında *qnr* geninin belirlenmesinde PZR testleri kullanıldı. Bu testler sonunda hedeflenen *qnr* geni, *C. jejuni* izolatlarının hiçbirinde bulunmadı.

4.9. Plazmid Aracılı Tetrasiklin Direnç Durumunun İncelenmesi

Yapılan PZR testleri (Şekil 4.9.) sonunda Haziran 2012 dönemine ait 30 (% 93,7) ve Ocak 2013 dönemine ait 18 (% 85,7) izolatın plazmid aracılı *tetO* geninin varlığı açısından pozitif olduğu tespit edildi (Tablo 4.11.). Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait *C. jejuni* izolatları arasında plazmid aracılı tetrasiklin direncinden sorumlu *tetO* geninin bulunma oranları arasındaki fark önemli bulunmadı (X^2 : 0,958; $P>0,05$).

Tablo 4.11. Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerine ait plazmid *tetO* geni PZR sonuçları

Dönemler	Numune Sayısı	Pozitif sonuç (%)	Negatif sonuç (%)
Haziran 2012	32	30 (93,7)	2 (6,2)
Ocak 2013	21	18 (85,7)	3 (14,2)
Toplam	53	48 (90,6)	5 (9,4)



Şekil 4.9. Plazmid aracılı tetrasiklin direncinin % 1,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M:100 bp DNA ladder, 1-11: Pozitif örnekler (559 bp) 8: Negatif kontrol (steril distile su)

4.10. DNA Sekans Analizi Sonuçları

4.10.1. Kinolon Direnci Sekans Sonuçları

Sekans analiz sonuçları, Sequencing Analysis version 5,3 ile analiz edildi ve BLAST ile GenBank'da referans sekanslarla karşılaştırıldı. Analiz edilen 8 izolata ait sekans aralıkları ve mutasyonlar Tablo 4.12.'de verildi. Sekans analizi sonunda dirençli izolatlarda öncelikle 86. aminoasitte treonin, izölösün (C-T) mutasyonuna rastlanırken, 3 duyarlı izolatda bu mutasyona rastlanmamıştır. Ayrıca dirençli ve duyarlı izolatlarda diğer aminoasitlerde (81., 119., 120. ve 121.) mutasyonların varlığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.12. Kinolon dirençli izolatlardaki sekans analizinin değerlendirme tablosu

SEKANS ARALIĞI	ÖRNEK NO	SEKANS	MUTASYON
76-91	5	GTTATAGGTCGTTATCA <u>T</u> CCACATGGAGATA <u>T</u> AGCAGTTTATGATGCTTT	81= CAC-CAT, 86=ACA-ATA
	16	GTTATAGGTCGTTATCA <u>T</u> CCACATGGAGATA <u>T</u> AGCAGTTTATGATGCTTT	81= CAC-CAT, 86=ACA-ATA
	19	GTTATAGGTCGTTATCACCCACATGGAGATA <u>T</u> AGCAGTTTATGATGCTTT	86=ACA-ATA
	24	GTTATAGGTCGTTATCA <u>T</u> CCACATGGAGATA <u>T</u> AGCAGTTTATGATGCTTT	81= CAC-CAT, 86=ACA-ATA
	31	GTTATAGGTCGTTATCA <u>T</u> CCACATGGAGATA <u>T</u> AGCAGTTTATGATGCTTT	81= CAC-CAT, 86=ACA-ATA
	34	GTTATAGGTCGTTATCACCCACATGGAGATACAGCAGTTTATGATGCTTT	YOK
	39	GTTATAGGTCGTTATCA <u>T</u> CCACATGGAGATACAGCAGTTTATGATGCTTT	81= CAC-CAT,
	40	GTTATAGGTCGTTATCACCCACATGGAGATACAGCAGTTTATGATGCTTT	YOK
110-125	5	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GC <u>T</u> GCTGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC 120: GCC-GCT
	16	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GC <u>T</u> GCTGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC 120: GCC-GCT
	19	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAGTGCCGCTGCGATGCGTTAT	YOK
	24	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GC <u>T</u> GCTGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC 120: GCC-GCT
	31	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GC <u>T</u> GCCGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC 120: GCC-GCT 121: GCT-GCC
	34	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAGTGCCGCTGCGATGCGTTAT	YOK
	39	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GC <u>T</u> GCTGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC 120: GCC-GCT
	40	AAGGCAACTTTGGATCTATAGATGGTGATAG <u>C</u> GCCGCTGCGATGCGTTAT	119:AGT-AGC

4.10.2. Makrolid Direnci Sekans Sonuçları

Sekans analiz sonuçları, Sequencing Analysis version 5,3 ile analiz edildi ve BLAST ile GenBank’da referans sekanslarla karşılaştırıldı. Analiz sonucu 13 izolata ait sekans aralıkları ve mutasyonlar Tablo 4.13.’de gösterildi. Sekans analizi sonucunda test edilen dirençli izolatlar arasında A2075G (A-G) mutasyonu tespit edilirken hiçbir izolatta A2074C (A-C) mutasyonuna rastlanmadı. Duyarlı izolatların hiçbirinde de bu iki mutasyona rastlanmadı. Ayrıca bir izolatta C2066A ve G2086C mutasyonları tespit edildi.

Tablo 4.13. Makrolid dirençli izolatlardaki sekans analizinin değerlendirme tablosu

ÖRNEK NO	SEKANS ARALIĞI 2036-2105bp	MUTASYON
1	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAGGA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	2075
3	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAGGA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	2075
4	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGACCTTTACTACAGCTTGAC	2066 ve 2086
11	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
12	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAGGA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	2075
14	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAGGA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	2075
15	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
16	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
17	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAGGA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	2075
18	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
19	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
20	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
21	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK
Standart suş	AGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAA GACCCCGTGGACCTTTACTACAGCTTGAC	YOK

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Campylobacter jejuni, kanatlı hayvanların bağırsak normal flora üyesidir (43). Mezbahada kesim sırasında kanatlı karkasları bu bakteri ile kontamine olmakta (62) ve kontamine karkasların tüketimi sonucunda insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (7, 9, 107). Bu hastalıkların tedavisinde çok sayıda antibiyotik kullanılmaktadır (42, 127). Son yıllarda, özellikle gelişmiş ülkelerde olmak üzere *C. jejuni*'nin, birden çok antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği gözlenmektedir (8, 19).

Bu çalışmada Haziran 2012 döneminde 100 ve Ocak 2013 döneminde 100 adet olmak üzere toplam 200 örnek *Campylobacter* spp. yönünden incelendi. Haziran 2012 döneminde toplanan 100 örneğin 81'i (%81); Ocak 2013 döneminde ise 100 örneğin 77'si (% 77) fenotipik testlerle *Campylobacter* spp. yönünden pozitif olarak saptandı. Haziran 2012 döneminde 81 pozitif örnekten 124, Ocak 2013 dönemindeki 77 pozitif örnekten 109 adet *Campylobacter* spp. izolatu elde edildi. İzolatların multipleks PZR ile moleküler identifikasyonunda Haziran 2012 döneminde 88 ve Ocak 2013 döneminde ise 68 *C. jejuni* izolatu elde edildi. İzole edilen *C. jejuni*'lerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapılan disk difüzyon testinde en yüksek direnç oranları, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemi izolatları için sırasıyla nalidiksik asit (% 78,4-% 92,6), siprofloksasin (% 67,1-% 86,7) ve tetrasikline (% 55,6-% 64,7) karşı gözlenirken, en düşük oranlar ise azitromisin (% 1,1-% 4,4), doksisisiklin (% 2,2-% 1,4) ve eritromisine (% 11,3-% 4,4) karşı bulundu. MİK değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan E test sonuçları ile disk difüzyon testi sonuçlarının uyumlu olduğu belirlendi. Direncin moleküler yönden belirlenmesi amacıyla PZR testleri yapıldı. Bu testlerle, tetrasiklin direnci için genomik *tetO* geni, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemi

izolatlarının sırasıyla % 88 ve % 85,7’inde gösterilirken, plazmid aracılı *tetO* geni izolatların % 93,7 ve % 85,7’sinde tespit edildi. Makrolid direncinde 23SrRNA’da A2074C mutasyonuna izolatların hiçbirinde rastlanmazken, A2075G mutasyonuna Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde izolatların % 18,4 ve % 14,8’inde rastlandı. Genomik kinolon direncinde *gyrA* geni üzerindeki mutasyonlar, Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemlerinde, izolatların % 83,5 ve % 81,8’inde tespit edilirken; plazmid aracılı kinolon direnci amacıyla incelenen *qnr* geni, izolatların hiçbirinde bulunamadı. PZR ile saptanan kinolon ve makrolid direnci, DNA sekans analizi ile doğrulandı. Sekans analiziyle kinolon dirençli izolatlarda Tre-86-İle mutasyonuna rastlanırken, duyarlı izolatlarda bu mutasyona rastlanmadı. Sekans analizi ile makrolid dirençli izolatlarda A2075G mutasyonu tespit edilirken; hiçbir izolatta A2074C mutasyonuna rastlanmadı. Duyarlı izolatların hiçbirinde de bu iki mutasyon görülmedi.

C. jejuni’nin prevalansına ilişkin gerek yurt dışında gerekse de yurdumuzda yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Williams ve Oyarzabal (157), 2005 ile 2011 yılları arasında gıda satış yerlerinden toplanan 755 broiler et örneklerini *Campylobacter* spp. yönünden incelemişlerdir. Toplanan örneklerde % 41 oranında *Campylobacter* spp. bulunduğu bildirilmiştir. Moleküler analiz sonucunda (mPZR ile), izolatların % 66’sı *C. jejuni* olarak identifiye edilmiştir. Mackiw ve ark. (158)’nin tavuk eti ve sakatatlarında *C. jejuni* varlığını belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, 218 örnek *Campylobacter* spp. yönünden incelenmiştir. Bu örneklerin 143 (% 65,6)’ünde *Campylobacter* spp. tespit edilmiştir. Bu 143 örneğin 35’inden de (% 24,5) *C. jejuni*’nin izole edildiği ifade edilmiştir. Garin ve ark. (159)’nin yaptıkları çalışmada, her bölgeden toplanan tavuk boyun derilerinden hazırlanan 150 örnekte *Campylobacter* spp. varlığı incelenmiştir. Toplanan örneklerin % 65,5’i (491/750) *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulunmuş ve bu örneklerden 633 izolat elde edilmiştir. İzolatların % 48,3’ünün *C. jejuni* olduğu bildirilmiştir. Bernadette ve ark. (160), 119 adet tavuk sekum örneğinden 76 (% 63,8) izolat elde etmiş ve PZR testleri sonunda, 76 izolatın % 51,3’ünün *C. jejuni* olduğunu bildirmişlerdir. Mansouri-najand ve ark. (161), tarafından bildirilen çalışmada, 90 tavuktan alınan örneklerin 68 (% 75,6)’i *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulunmuştur. Yapılan çalışmada, 41 (% 60,3) *C. jejuni* izolatı tespit edilmiştir.

Türkiye’den, Aydın ve ark. (143)’nin yaptıkları çalışmada 300 broiler karkası incelenmiştir. Fenotipik testlerle 168 (% 56) örnek *Campylobacter* spp. yönünden

pozitif bulunmuştur. Yapılan PZR testleri sonunda izolatların % 56'sının *C. jejuni* olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. (162)'nin bildirdiği çalışmada broiler dışkı örneklerinden ve karkaslarından termofilik *Campylobacter* spp. prevalansı incelenmiştir. Örneklerin 393'ünden (% 91,8) *Campylobacter* spp. izole edildiği ve izolatların % 92,2'sinin *C. jejuni* olduğu rapor edilmiştir. Özkan (144) tarafından yapılan çalışmada; broiler barsak örneklerinin % 94'ü, broiler karkas örneklerinin % 100'ü, yumurtacı dışkı örneklerinin % 84'ü termofilik kampilobakter türleri yönünden pozitif bulunmuştur. Fenotipik testlerle elde edilen 348 *Campylobacter* spp izolatının mPZR ile 337 (% 96,83)'si *C. jejuni* olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Haziran 2012 döneminde 100 ve Ocak 2013 döneminde 100 adet olmak üzere toplam 200 örnek *Campylobacter* spp. yönünden incelenmiştir. Örnekler mCCD agara direkt ekim yoluyla inoküle edilmiştir. Haziran 2012 döneminde toplanan 100 örneğin 81'i (% 81); Ocak 2013 döneminde ise 100 örneğin 77'si (% 77) fenotipik testlerle *Campylobacter* spp. yönünden pozitif olarak saptanmıştır. Haziran 2012 döneminde 81 pozitif örnekten 124, Ocak 2013 dönemindeki 77 pozitif örnekten 109 adet *Campylobacter* spp. izolatu elde edilmiştir. İzolatların multipleks PZR ile moleküler identifikasyonunda Haziran 2012 döneminde 88 (% 70,9) ve Ocak 2013 döneminde ise 68 (% 62,4) *C. jejuni* izolatu elde edilmiştir. Çalışmada Haziran 2012 dönemindeki izolasyon ve identifikasyon sonuçlarının Ocak 2013 dönemindeki sonuçlardan yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Ancak, bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Çalışmamızdaki izolasyon ve identifikasyon oranlarından düşük (157, 159, 160), sonuçlarımızla uyumlu (161) ve sonuçlarımızdan yüksek sonuç veren çalışmalar (144, 162) bulunmaktadır. Bu çalışmalar arasındaki farklılıklar mevsimsel aktivite (163-165), seçilen izolasyon yöntemi (166, 167), izolasyonda kullanılan besiyeri (168), izole edilen hayvanların durumu (163, 169), identifikasyon yönteminin seçimi (170), bölgesel farklılıklar (171) ve işletmeler arasındaki hijyen farklılığından (172) kaynaklanıyor olabilir.

Antibiyotikler tüm dünyada oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Birçok ülkede antibiyotikler uzun süreler boyunca veteriner sahada terapötik amaçtan ziyade hayvan beslemede büyüme hızını artırıcı olarak kullanılmıştır (134, 173). Bu amaçla düşük miktarlarda kullanıldığı için antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin sayısında artış gözlenmiş, buna bağlı olarak bazı ülkelerde antibiyotiklerin kullanımları

sınırlandırılmıştır (127, 134). Yine de gelişmekte olan ülkelerde antibiyotiklerin yemlere ilavesi halen devam etmektedir (134, 174). Endonezya, Tayland, Hindistan ve Afrika Kıtası'nın bazı bölgelerinde veteriner sahada kullanılan antibiyotiklerin reçetesiz olarak elde edilebileceği ve bu antibiyotiklerin kontrolsüz olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Bu nedenle gelişmekte olan ülkelerde dirençli bakteri sayısında gün geçtikçe artış gözlemlendiği bildirilmektedir (137, 134).

Kinolonların 1980'lerde ortaya çıkması, bakteriyel enfeksiyonların tedavisi açısından büyük bir ümitle karşılanmıştır. *C. jejuni*'nin neden olduğu gastroenteritli hastaların tedavi edildiği başlangıç çalışmalarında, oldukça başarılı sonuçlar alınmasına rağmen; bu antibiyotiklere kısa süre içerisinde direnç gelişmiştir. Florokinolonlardan enrofloksasin 1987'de Hollanda'da kanatlı enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (127). İnsan *C. jejuni* klinik izolatları arasında florokinolon direncinin ortaya çıkışı Hollanda'dan (175), İspanya'dan (176, 177) ve Kanada'dan (178, 179) bildirilmiştir (127). İnsan ve kanatlı orijinli *C. jejuni* izolatları arasında enrofloksasin kullanılmaya başlanmadan önce siprofloksasin direnci bildirilmemişken; enrofloksasinin kullanılmaya başlamasından sonra insanlarda % 11 ve kanatlılarda % 14 oranında siprofloksasin direnci görülmüştür (127).

Bu çalışmalara ilaveten *C. jejuni*'lerin florokinolon direncine ilişkin gerek yurt dışından gerekse yurdumuzdan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Rahimi ve Ameri (180), *C. jejuni* izolatlarında % 54 oranında nalidiksik aside, % 49,7 oranında siprofloksasine ve % 11, 8 oranında enrofloksasine karşı direnç tespit etmişlerdir. Andersen ve ark. (181)'nin çalışmasında, 1996-2003 yılları arasında tavuk etlerinden izole edilen *C. jejuni*'lerin nalidiksik asit ve siprofloksasine karşı % 7,4- % 12,5 ve % 7,4- % 12,5 oranlarında direncin bulunduğu ifade edilmiştir. Bu çalışma ile tavuk etlerinden izole edilen *C. jejuni*'lerin florokinolon grubu antibiyotiklerine karşı direncinde, 1996 ile 2003 tarihleri arasında azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durumun gıda olarak tüketilen hayvanların üretiminde florokinolonların kullanımının sınırlandırılmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Rodrigo ve ark. (171), kampilobakter izolatlarının siprofloksasine karşı % 86,6 oranında direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Obeng ve ark. (182), kanatlılardan izole edilen kampilobakter türlerinde siprofloksasin direncinin bulunmadığını bildirilmişlerdir. Senok ve ark. (183)'nin çalışmasında, 117 insan ve 33 tavuk orijinli *C. jejuni* izolatlarının % 80'inin siprofloksasine dirençlilik gösterdiği

bildirilmiştir. Wieczorek ve ark. (184), 321 tavuk karkas örneğinden izole edilen *C. jejuni* izolatlarının % 91'inin siprofloksasine, % 89,3'ünün nalidiksik asite karşı dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Yurdumuzda yapılan çalışmalarda, *C. jejuni*'lerin antibakteriyellere karşı duyarlılıkları incelendiğinde artan bir direnç gelişimi gözlenmektedir. Gür ve ark.(185)'nin çalışmalarında kampilobakter izolatlarının tümü kinolonlara duyarlı bulunurken, Akan ve ark. (186), 119 kampilobakter izolatının sadece birinde kinolon direnci saptamıştır. Kinolon direncini; Yıldırım ve ark. (187) % 26, Öncül ve ark. (188) % 14, Öngen ve ark. (189) % 59, Güney ve Başustaoğlu (190), ise % 64,3 olarak bildirmişlerdir. Çakmak. (191), hindi but, göğüs ve kuşbaşı örneklerinden ayrılan *C. jejuni* izolatlarının 19'unun (% 17,4) siprofloksasine, 10'unun (% 9,2) nalidiksik aside dirençli olduğunu belirlemiştir. Abay ve ark. (107), insan ve kanatlılardan izole edilen *C. jejuni* izolatlarının nalidiksik asit, siprofloksasin ve enrofloksasin antibiyotiklerine dirençlerini sırasıyla % 84-95, % 81-93 ve % 85-88 oranlarında tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada Haziran 2012 ve Ocak 2013 döneminde ait izolatların, enrofloksasin (% 58-% 61,8), nalidiksik asit (% 78,4-% 92,6), levofloksasin (% 54,5-% 64,7) ve siprofloksasin (% 67-% 86,8) antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Sunulan çalışmadaki kinolon direnç oranlarından düşük (180, 182), sonuçlarımız ile uyumlu (171, 183) ve sonuçlarımızdan yüksek (184) direnç oranına sahip çalışmalar bulunmaktadır. Bu farklılıkların test edilen mikroorganizmanın fenotipik ve genotipik özelliklerine (192, 193), kinolonların kanatlılara uygulanış sürelerine (194, 195), incelenen materyalin farklılığına ve bölgesel farklılıklara (191) bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Makrolidler, 1950'li yıllarda keşiflerinden sonra özellikle eritromisin gibi türevleri *C. jejuni* kaynaklı gastroenteritlerin tedavisinde güvenli bir şekilde kullanılmaktadırlar (127, 135). Eritromisinin *C. jejuni* kaynaklı gastroenteritlerin tedavisinde kullanılması (134) ve tilosinin hayvanlarda gelişmeyi artırıcı amaçla kullanımı (108) sonucu direnç gelişimi başlamıştır. Eritromisin direnci ile ilgili olarak yapılmış bir çalışmada Alberta Kanada'da 1980-81 yıllarında eritromisin direncine rastlanmazken; 1999-2000 yıllarında yine Alberta Kanada'da *C. jejuni* izolatları arasında % 1'den az direnç saptandığı bildirilmiştir. Dünya genelinde bu yıllarda Danimarka'da eritromisin direnci

% 0 ve Tayvan'da % 10 olarak bildirilmiştir (127). İki binli yıllara gelindiğinde A.B.D.'de *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarında sırasıyla % 2,3 ve % 10,1 oranındaki makrolid direnci dikkat çekmeye başlamıştır. Fakat sonraki yıllarda bu oranın % 1,2 ve % 4,3 olarak azaldığı bildirilmiştir. Avrupa Birliği Ülkeleri'nde 2010'da *C. jejuni* makrolid direnci için en yüksek oran Malta'dan (% 10) ve İtalya'dan (% 33) bildirilmiştir. Asya ve Afrika'da bu oran oldukça yüksektir. Nijerya'da makrolid dirençli izolatların oranı yaklaşık % 80 olarak bildirilirken, Kinolon direncine benzer şekilde Güney Afrika'da makrolid dirençli izolatların oranının % 88 olduğu bildirilmiştir (134).

C. jejuni'lerin makrolid direncine ilişkin gerek yurt dışında gerekse yurdumuzda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Rahimi ve Ameri (180) izole edilen *C. jejuni*'lerin % 1,2'sinin eritromisine dirençli olduğunu bildirmiştir. Haruna ve ark. (196), *C. jejuni* izolatlarının tamamının eritromisine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Perez-Boto ve ark. (197), Obeng ve ark. (182), Senok ve ark. (183), Kos ve ark. (198) ve Wieczorek ve ark. (184), çalışmalarında *C. jejuni* izolatlarının tamamının eritromisine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Habib ve ark.(199), *C. jejuni* izolatlarının % 0,7'sinin eritromisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Luber ve ark. (200) eritromisin direncini % 6,1 oranında bulmuşlardır. Zhao ve ark. (201), % 2,8 oranında azitromisine ve eritromisine karşı direnç tespit edildiğini bildirmişlerdir. Andersen ve ark. (181) tarafından bildirilen çalışmada, eritromisin % 0,7-% 1) direncinin düşük oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Thibodeau ve ark. (202), *C. jejuni* izolatlarının % 6'sının eritromisine ve azitromisine karşı dirençli bulunduğunu saptamışlardır.

Ülkemizden Öztürk ve ark. (203) % 5,2, Yılmaz ve Tuğrul (14) % 8, Güney ve Başustaoğlu (190) yalnızca bir izolatta eritromisin direnci saptamıştır. Abay ve ark. (107), insan ve kanatlı orijinli *C. jejuni* izolatlarında eritromisin direncini sırasıyla % 6 ve % 7 oranında tespit etmişlerdir. Çakmak (191) tarafından yapılan çalışmada *C. jejuni* izolatlarının % 95,4'ünün azitromisine, % 94,5'inin eritromisine, direnç gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada Haziran 2012 ve Ocak 2013 döneminde ait izolatların; eritromisin (% 11,4- % 4,4), azitromisin (% 1,1-% 4,4) ve tilosin (% 40,9-% 47,1) antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Takdim edilen çalışmadaki makrolid direnç

oranlarından düşük (182, 183, 197), bu sonuçlar ile uyumlu (201) ve bu bulgulardan yüksek (191) direnç oranına sahip birçok çalışma bulunmaktadır. Mevcut farklılıkların test edilen mikroorganizmanın fenotipik ve genotipik özelliklerine (193), incelenen materyalin farklılığına ve bölgesel farklılıklara (191) bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bir diğer neden olarak; makrolidlerin hayvanlarda büyümeyi artırıcı olarak kullanımı akla gelmektedir. Avrupa Birliği ülkelerinde 1999'dan bu yana makrolidlerin hayvan yemlerine katılması yasaklanmıştır. Bu nedenle bu ülkelerdeki makrolid direncinde ciddi oranlarda düşüş gözlenmiştir. Gelişmekte olan ülkelere makrolidlerin kullanımının devam ettiği, bunun da makrolid direncinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (23).

Tetrasiklinler, 1940 yıllarında keşfedilmelerinden sonra Veteriner ve Beşeri hekimlikte çeşitli bakteriyel hastalıklara karşı yoğun bir şekilde kullanılmışlardır. Bunun sonucunda ortaya çıkan direnç nedeniyle günümüzde kullanımları sınırlandırılmıştır (206). Özellikle insan *C. jejuni* klinik izolatları arasında tetrasiklin direnci 1980'lerden bu yana hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Kanada'dan bildirilen bir çalışmada sadece on yıllık bir süre içerisinde insan klinik *C. jejuni* izolatları arasında tetrasiklin direncinin % 19'dan % 56'ya yükseldiği bildirilmiştir (179). A.B.D ve Japonya'da tetrasiklin direnci % 55 olarak bildirilirken (204, 205); bir başka çalışmada kanatlılardan izole edilen *C. jejuni*'lerin tamamında tetrasiklin direncinin bulunduğu ifade edilmiştir (206). Doksanlı yılların sonunda Tayland'da bu oran % 95 olarak tespit edilmiştir (127, 207).

C. jejuni'lerin tetrasiklin direncine ilişkin yurt dışından ve yurt içinden çeşitli çalışmalar bildirilmiştir. Rahimi ve Ameri (180), *C. jejuni* izolatlarında % 70,6 oranında tetrasiklin direnci tespit etmişlerdir. Haruna ve ark. (196), *C. jejuni* izolatlarının % 27'sinin oksitetrasikline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Habib ve ark.(199), *C. jejuni* izolatlarının % 48,2'sinin tetrasikline duyarlı olduğunu saptamışlardır. Luber ve ark. (200), *C. jejuni* izolatlarının % 37,8'inin tetrasikline dirençli olduğunu; Zhao ve ark. (201) ise, *C. jejuni* izolatlarının doksisikline karşı % 46,6 oranında direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Perez-Boto ve ark. (197), 697 *C. jejuni*'nin tetrasiklin antibiyotikğine direncini % 48,2 olarak bulmuşlardır. Obeng ve ark. (182), *C. jejuni*'lerin tetrasikline karşı direncinin düşük seviyelerde (% 5,5-% 47) olduğunu ifade etmişlerdir.

Ülkemizde *C. jejuni* izolatlarının tetrasiklin direncine ilişkin yapılan bir çalışmada Öngen ve ark. (189) sadece bir izolatta tetrasiklin direnci bildirmişlerdir. Güney ve Başustaoğlu (190) ise tetrasikline karşı % 35,7 oranında direnç saptamışlardır. Çakmak (191), *C. jejuni* izolatlarının % 36,7'sinin tetrasikline direnç gösterdiğini belirlemiştir. Abay ve ark.(107), insan ve kanatlı orijinli *C. jejuni* izolatlarının tetrasiklin dirençliliklerini sırasıyla % 38 ve % 56 olarak bildirmişlerdir.

Sunulan bu çalışmada Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemine ait izolatların; tetrasiklin (% 55,6- % 64,7), oksitetrasiklin (% 40,9-% 39,7) ve doksisisiklin (% 2,3-% 1,5) antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ki tetrasiklin direnç oranlarından düşük (182, 196), benzer (191, 197, 199, 200) ya da mevcut bulgulardan yüksek (180, 201) çalışmalar bulunmaktadır. Bu farklılıkların test edilen mikroorganizmanın fenotipik ve genotipik özelliklerine (193, 208), incelenen materyalin farklılığına (200), ayrıca gerek ülkesel gerekse de bölgesel olarak antibiyotiklerin gıda olarak tüketilen hayvanlarda uygulanış biçimine (181) bağlı olabileceği düşünülmektedir.

C. jejuni izolatları arasında çoklu antibiyotik direnç durumu, etkenin neden olduğu hastalıkların etkili bir şekilde tedavisini güçleştirmektedir (119, 127). Tayland'dan Hoge ve ark. (209)'nın çalışmasında azitromisin ve siprofloksasin dirençli izolatların varlığı % 100 olarak bildirilirken; Tayvan'dan nalidiksik asite dirençli izolatların aynı zamanda siprofloksasin ve tetrasiklin direncine de sahip olduğu bildirilmiştir (119, 207,).

C. jejuni'lerin çoklu antibiyotik direncine ilişkin gerek yurt dışında gerekse yurdumuzda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Tambur ve ark.(210) tarafından yapılan çalışmada insan, domuz ve broiler orijinli toplam 55 *C. jejuni* izolatının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, disk difüzyon, E test ve agar difüzyon metotlarıyla incelenmiştir. E test sonuçlarına göre *C. jejuni* izolatlarının büyük bir kısmı iki (% 41,2) ve üç (%11,8) antibiyotiğe karşı dirençli bulunurken; disk difüzyon metoduna göre insan orijinli *C. jejuni* izolatlarının % 5,9'u, dört farklı antibiyotiğe karşı çoklu direnç göstermiştir. Ku ve ark. (211), 2004 ile 2008 yılları arasında toplanmış tavuk eti ve insan kökenli 173 *Campylobacter* spp. izolatına karşı 9 farklı antibiyotiğin duyarlılıklarını test etmişlerdir. Çalışılan 173 izolatın 140 (% 80,9)'ında 3 ile 8 antibiyotiğe karşı çoklu antibiyotik

direnci bulunmuştur. Çalışmada en sık rastlanan çoklu ilaç direnç şeklinin izolatların % 52,6'sının bulunduğu, dört (siprofloksasin, nalidiksik asit, ampicilin ve tetrasiklin) antibiyotiğe karşı şekillenen direnç olduğu bildirilmiştir. Salihu ve ark. (212)'nin yaptıkları çalışmada, broiler orijinli 70 *C. jejuni* izolatının % 14,3'ü tek bir antibiyotiğe, % 24,3'ü iki antibiyotiğe, % 40'ı ise ikiden fazla antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur. Ülkemizden Abay ve ark. (107), insan ve tavuk orijinli *C. jejuni* izolatlarının 9 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıklarını inceledikleri çalışmada E test ve disk difüzyon testini kullanmışlardır. Testler sonunda insan izolatlarının % 34'ü ve tavuk izolatlarının % 37'si dört farklı antibiyotiğe karşı dirençli oldukları görülmüştür.

Bu çalışmada Haziran 2012 dönemi izolatlarının 64'ünde ve Ocak 2013 dönemi izolatlarının 63'ünde çoklu ilaç direnci gözlenmektedir. İzolatların büyük bir kısmı 36/156 (% 23,07) 5 farklı antibiyotiğe karşı direnç göstermektedir. Ocak 2013 dönemine ait 2 izolat, doksisisiklin hariç test edilen tüm antibiyotiklere karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. Çalışmadaki oranlardan düşük, sonuçlar ile uyumlu ve bulgulardan yüksek oranlara sahip çalışmalar bulunmaktadır. Bu farklılıkların, kullanılan antibiyotiklere, antibiyotik çeşitliliğine, bilinçsiz antibiyotik kullanımına ve mikroorganizmalar arası plazmid aracılı direnç aktarımına bağlı olduğu (208) düşünülmektedir.

C. jejuni'lerin kinolon antibiyotiklerine karşı MİK dağılımlarına ilişkin gerek yurt dışında gerekse yurdumuzda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Cardinale ve ark. (213)'nin izole ettikleri 120 *C. jejuni*'nin antibiyotiklere duyarlılıkları E test ile belirlenmiştir. MİK değerlerine göre kampilobakter izolatlarının % 34'ü siprofloksasine dirençli (MİK $\geq$ 32 mg/l) bulunmuştur. Uzunovic-Kamberovic ve ark. (214), tarafından izole edilen kampilobakterlerin siprofloksasine ait MİK değerleri; E test ve sıvı mikrodilüsyon testleriyle belirlenmiştir. Siprofiloksasin direnci insanlarda, kanatlı etlerinde ve kanatlılarda yüksek oranlarda (% 32,1, % 23,5, % 26,7) saptanmıştır. Siprofloksasin dirençli *C. jejuni* izolatlarının tamamında MİK değeri, $\geq$ 32 μ g/ml olarak bulunmuştur. Hariharan ve ark. (215), 21 *C. jejuni* izolatının antibiyotiklere duyarlılıklarını E test ile incelemişlerdir. *C. jejuni*'nin siprofloksasine direnci % 10'dan az bulunmuştur. Çalışmada siprofloksasine dirençli izolatların tamamında MİK değeri $\geq$ 32 μ g/ml olarak bildirilmiştir. Ülkemizden Yıldırım ve ark. (162)'nin çalışmalarında izole edilen 60 *C. jejuni* izolatının E test yöntemine göre % 78,8'i siprofloksasine, % 49,4'ü

enrofloksasine dirençli olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda olduğu gibi bu çalışmada da disk difüzyon ve E test yöntemleri arasında büyük bir uyum bulunmaktadır.

Sunulan bu çalışmada E test sonuçlarının disk difüzyon testi sonuçları ile uyumlu olduğu ortaya çıkmıştır. Disk difüzyon testi ile dirençli olarak bulunan izolatların tamamı aynı şekilde E test ile de dirençli olarak bulunmuştur (216). E test sonuçlarına göre Haziran 2012 dönemi dirençli izolatlarının MİK dağılımları, nalidiksik asit için ≥ 32 µg/ml, enrofloksasin için ≥ 2 µg/ml, siprofloksasin için ≥ 4 µg/ml µg/ml ve levofloksasin için ≥ 8 µg/ml µg/ml olarak bulunurken; Ocak 2013 dönemi dirençli izolatlarında, nalidiksik asit için ≥ 32 µg/ml, enrofloksasin için ≥ 2 µg/ml, siprofloksasin için ≥ 4 µg/ml µg/ml ve levofloksasin için ≥ 8 µg/ml µg/ml olarak tespit edilmiştir. Mevcut çalışmadaki oranlardan farklı oranlara sahip çalışmalar bulunmaktadır. Bu farklılıkların, MİK belirlenmesinde kullanılan yöntem ve değerlendirilmeye (208, 214) bağlı olduğu düşünülmektedir.

C. jejuni'lerin makrolid grubu antibiyotiklere karşı MİK dağılımlarına ilişkin gerek yurt dışından gerekse yurdumuzdan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Uzunovic-Kamberovic ve ark. (214) tarafından izole edilen kampilobakterlerin eritromisine ait MİK değerleri, E test ve sıvı mikrodilüsyon testleriyle belirlenmiştir. Eritromisin direnci insanlarda, kanatlı etlerinde ve kanatlılarda % 26,4, % 35,3, % 26,7 olarak belirlenmiştir. Eritromisin dirençli *C. jejuni* izolatların % 94,4'ünde MİK değerleri, ≥ 128 µg/ml olarak bulunmuştur. Yurdumuzdan Yıldırım ve ark.(162)'nin çalışmalarında kampilobakterlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının incelenmesi amacıyla kullanılan disk difüzyon testi ile E test yöntemlerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Bu çalışmada, takdim edilen çalışmada olduğu gibi *C. jejuni* NCTC 11168 ile hindilerden ve tavuklardan izole edilmiş 60 *C. jejuni* izolatının %21,2'si disk difüzyon testinde ve Etest'te eritromisine dirençli olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada E test sonuçlarının disk difüzyon testi sonuçları ile uyumlu olduğu ortaya çıkmıştır. E test sonunda, disk difüzyon testi ile dirençli bulunan izolatların tamamı aynı şekilde dirençli olarak bulunmuştur (216). Makrolid grubu antibiyotiklerin E test sonuçları, Haziran 2012 döneminde eritromisin ve azitromisin için ≥ 32 µg/ml bulunurken; Ocak 2013 döneminde ≥ 128 µg/ml ve ≥ 32 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki oranlardan farklı oranlara sahip çalışmalar bulunmaktadır. Bunun

nedeni olarak, dirence neden olan mekanizmanın farklılığı (23) ve bazı ülkelerde makrolidlerin büyümeyi artırıcı olarak kullanılması (213) gösterilmektedir.

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin MİK dağılımlarına ilişkin gerek yurt dışında gerekse yurdumuzda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Miflin ve ark. (216), 125 *C. jejuni* izolatını agar dilüsyon testi ile inceledikleri çalışmalarında, tetrasiklin için MİK değerinin ≥ 16 mg/L olarak bulunduğu bildirilmiştir. Hariharan ve ark. (215), 21 *C. jejuni* izolatının 7 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıklarını E test ile incelemişlerdir. Tetrasiklin için MİK değeri ≥ 256 µg/ml olarak bulunmuştur. Yurdumuzdan Yıldırım ve ark.(162)'nın çalışmalarında kampilobakterlerin antibiyotiklere duyarlılıklarının incelenmesi amacıyla kullanılan disk difüzyon testi ile E test yöntemlerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışmada *C. jejuni* NCTC 11168 ile hindilerden ve tavuklardan izole edilmiş 60 *C. jejuni* izolatı incelenmiştir. Disk difüzyon testine göre izolatların % 14,1'i tetrasikline dirençli bulunmuştur. E test yöntemine göre izolatların % 12,9'u tetrasikline karşı dirençli olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi bahsi geçen çalışmada da disk difüzyon ve E test yöntemleri arasında büyük bir uyum bulunmaktadır.

Çalışmada E test sonuçlarının disk difüzyon testi sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Disk difüzyon testi ile dirençli olarak bulunan izolatların tamamı aynı şekilde E test ile de dirençli olarak bulunmuştur (216). E test sonuçlarına göre Haziran 2012 dönemi izolatlarının MİK dağılımları tetrasiklin, oksitetrasiklin ve doksisisiklin antibiyotikleri için, sırasıyla ≥ 16 µg/ml, ≥ 16 µg/ml ve ≥ 8 µg/ml olarak bulunurken; Ocak 2013 dönemi izolatlarında tetrasiklin, oksitetrasiklin ve doksisisiklin antibiyotikleri için, sırasıyla ≥ 16 µg/ml, ≥ 16 µg/ml ve ≥ 256 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Sunulan bu çalışmadaki oranlardan farklı bulguların, MİK belirlenmesinde kullanılan yöntem (216) ve mikroorganizmaya (208) bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca tetrasiklinlerin kanatlılarda profilaktik ve büyümeyi artırıcı olarak kullanımı da bu farklılıklara neden olabilmektedir (215).

Campylobacter spp.'de tetrasiklin direncinden sorumlu olan *tetO* geni kromozomal ve daha çok plazmid kökenlidir. Genlerin ürünü olan TetO ve TetM proteinleri ile ribozomal koruma sağlanır. Böylece tetrasiklin, ribozomun A bölgesine bağlanamaz ve etkisini gösteremez (134).

C. jejuni'lerin tetrasiklin direncinin moleküler yöntemlerle incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Gibreel ve ark. (149)'nın çalışmalarında yüksek düzeyde tetrasiklin direnci bulunan *C. jejuni* izolatlarında (MİK ≥ 512 µg/ml) plazmid ve genomik kökenli *tetO* geninin varlığı, PZR testleri ile araştırılmıştır. İzolatların % 63'ü plazmid ve % 37'si ise genomik *tetO* geni yönünden pozitif bulunmuştur. Pratt ve Korolik (217)'in çalışmasında, yüksek düzeyde tetrasiklin direnci bulunan izolatların MİK dağılımları 32 ile 256 mg/L arasında bulunmuştur. Araştırılan *tetO* geni tüm tetrasiklin direnci bulunan izolatlarda tespit edilmiş ve büyük oranda kromozomal kaynaklı oldukları bildirilmiştir. Obeng ve ark. (182)'nin çalışmalarında *TetO* geninin varlığı PZR ile ortaya konmuştur. Çalışmada tetrasiklin direncinin incelenmesinde Pratt ve Korolik (217)'in bildirdiği primerler kullanılmıştır. Araştırmacılar, testler sonucunda tetrasiklin direncini ve *tetO* geninin varlığını, serbest tip yumurtacı tavuklarda % 40,7 ve % 40,7, kafeslerde yetiştirilen etçi ırklarda % 5,6 ve % 5,6 olarak bulmuşlardır. Serbest etçi tip ırklarda tetrasiklin direncinin varlığı ve *tetO* geninin taşıyıcılığı bulunamamıştır. Dasti ve ark. (218)'nin yaptıkları çalışmada, *C. jejuni* izolatlarının 13 (% 18)'ünde tetrasiklin direnci (256 µg/ml) bildirilmiştir. Düşük ve yüksek seviyedeki tetrasiklin direnci *tetO* geni ile ilişkilendirilmiştir. Tetrasiklin dirençli *C. jejuni* izolatlarının % 54'ünde *tetO* geninin, plazmid kökenli olduğu bildirilmiştir. Oyarzabal ve ark. (219)'nin tetrasiklin direncini inceledikleri çalışmada, Gibreel ve ark. (149)'nın bildirdiği PZR yöntemi ve DMT1 ve DMT2 primerleri kullanılmıştır. Sadece bir izolatta tetrasiklin direnci tespit edilmiştir. Yirmi iki izolatta tetrasiklin yönünden MİK değeri araştırılmış ve 1-8 µg/ml arasında olduğu belirtilmiştir. Bu izolatların dokuzunda *tetO* geni tespit edilmiş ancak bunların genomik kökenli oldukları plazmid kökenli olmadıkları ifade edilmiştir. Kos ve ark. (198)'nin çalışmalarında tetrasiklin direnci % 69 oranında bulunmuştur. Sunulan bu çalışmada olduğu gibi tetrasiklin direncine neden olan *tetO* geni, tetrasiklin dirençli izolatların (128-512µg/ml) plazmid ve kromozomal DNA'larında Gibreel ve ark. (149)'nın bildirdiği PZR yöntemi ile incelenmiştir. PZR testleri sonucunda 72 izolatın 67'sinde (% 93,05) *tetO* geninin plazmid kökenli olduğu, 5'inde ise kromozomal kökenli olduğu bildirilmiştir. Mazi ve ark.(220) tarafından yapılan çalışmada, tetrasiklin direnci incelenmiştir. Testler sonucunda tavuk izolatlarının tetrasiklin direncinin (% 80,9), insan izolatlarından (% 41,3) daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Tetrasiklin direncinin genetik analizi için plazmid DNA'sına, takdim edilen çalışmada olduğu gibi Gibreel ve ark. (149)'nın bildirdiği PZR yöntemi uygulanmıştır. Plazmid DNA'larının

tamamında *tetO* geninin varlığı bildirilmiştir. Yurdumuzda *Campylobacter* spp.'lerde tetrasiklin direncinde rol oynayan *tetO* geninin moleküler yöntemle araştırıldığı herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Çalışmada Haziran 2012 dönemine ait 50 izolatın 44'ü (% 88), Ocak 2013 dönemine ait 49 izolatın 42'si (% 85,7) genomik *tetO* geni yönünden pozitif bulunmuştur. Haziran 2012 dönemine ait 32 izolatın 30'u (% 93,7) ve Ocak 2013 dönemine ait 21 izolatın 18'i (% 85,7) plazmid aracılı *tetO* geninin varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Bu çalışmadaki oranlardan düşük (217, 218, 219), benzer (149) ya da yüksek (220) oranlara sahip çalışmalar da bulunmaktadır. Bu farklılıkların, tetrasiklin direncine neden olan mekanizmalardan birinin ya da birkaçının mikroorganizmalarca kullanılmasından ileri geldiği düşünülmektedir (127, 134).

C. jejuni'deki kinolon direnci; *gyrA* genindeki kinolon direncini belirleyen bölge QRDR'deki spesifik nokta mutasyonu ve CmeABC efluks pompaları aracılığıyla gerçekleşmektedir (23, 134).

C. jejuni'lerin kinolon direncinin moleküler yöntemlerle incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Zirnstein ve ark. (152), siprofloksasin dirençli 13 ve duyarlı 20 *C. jejuni* izolatında QRDR'nin varlığını PZR ile, bu bölgede yer alan *gyrA* bölgesindeki mutasyonları MAMA-PZR ile incelemişlerdir. Mutasyonların doğrulanması amacıyla DNA sekans analizi yapılmıştır. Testler sonucunda siprofloksasin dirençli izolatların çoğunda Treonin-86-İzolösün (Tre-86-İzo) mutasyonu bulunduğu bildirilmiştir. Geliştirilen MAMA-PZR ile sekansa gerek kalmadan rutin olarak *gyrA* genindeki mutasyonların saptanabileceği bildirilmiştir. Bakali ve ark. (221)'nin çalışmalarında kinolon direncinin incelenmesi amacıyla rastgele seçilen *C. jejuni* 55 izolatın QRDR'sini sekans analizine tabi tutmuşlardır. Bu izolatlar içerisinde 37 kinolon dirençli izolatın tamamında Tre-86-İzo mutasyonunun varlığı bildirilmiştir. Çalışmamızda sekans analizi sonucuna benzer şekilde 37 izolatın bir kısmında 81., 119., 120., 136., 149., 157 ve 161. kodonlarda sessiz mutasyonların varlığı tespit edilmiştir. Sonnevend ve ark. (222)'nin çalışmalarında 147 *C. jejuni* izolatının % 68'inde siprofloksasin direnci tespit edilmiştir. Bu çalışmada da dirençli izolatlar Zirnstein ve ark. (152)'nin bildirdiği MAMA-PZR uygulanmıştır. MAMA-PZR ile mutasyonun varlığı gösterilmiştir. Mutasyonun doğrulanması amacıyla izolatlar DNA sekans analizi

yapılmıştır. Sekans analizi sonucunda dirençli izolatların % 98'inde *gyrA* geninde mutasyona neden olan Tre-86-İzo değişiminin bulunduğu bildirilmiştir. Said ve ark. (223)'nın çalışmasında, siprofloksasin dirençli *C. jejuni* izolatlarına Zirnstein ve ark. (152)'nın bildirdiği MAMA-PZR testi uygulanmıştır. MAMA-PZR testi yönünden pozitif 10 ve 4 negatif örnek mutasyonların doğrulanması amacıyla DNA sekans analizine tabi tutulmuştur. Florokinolon dirençli izolatların tamamında sunulan çalışmada olduğu gibi Tre-86-İzo mutasyonun olduğu ancak duyarlı izolatların hiçbirinde bu mutasyonun görülmediği bildirilmiştir. Wirz ve ark. (193) tarafından yapılan çalışmada 46 *C. jejuni* (% 18,9) izolatında Tre-86-İzo mutasyonu tespit edildiği bildirilmiştir. Rozynek ve ark. (224)'nın çalışmalarında 149 *C. jejuni*'nin kinolon direnç durumu *GyrA* genindeki Tre-86-İzo mutasyonu, Zirnstein ve ark. (152)'nın bildirdiği MAMA-PZR testi ile incelenmiş; daha sonra mutasyonların doğrulanması amacıyla DNA sekans analizi yapılmıştır. Tüm siprofloksasin dirençli izolatlarda Tre-86-İzo mutasyonunun varlığı gösterilmiştir. Helmi ve ark. (225), siprofloksasin direncinin gösterilmesi için Zirnstein ve ark. (152)'nın bildirdiği MAMA-PZR testini kullanmıştır. Siprofloksasin direncine sahip 25 *C. jejuni* izolatının 22'sinde mutasyonun varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca mutasyonların doğrulanması amacıyla çalışmamızda olduğu gibi 5 dirençli ve 3 duyarlı *C. jejuni* izolatı DNA sekans analizine tabi tutulmuştur. Dirençli izolatlarda Tre-86-İzo mutasyonunun varlığı gösterilmiş ayrıca bu izolatlarda bu çalışmayla benzer şekilde 81. (His-81-His= CAC-CAT) ve 119. (Ser-119-Ser=AGT-AGC) kodonlarda sessiz mutasyonların varlığı bildirilmiştir.

Yurdumuzda *Campylobacter* spp.'lerde kinolon direncinin moleküler yöntemle araştırıldığı bir poster bildirisi dışında (226) herhangi bir çalışma mevcut değildir. QRDR, Haziran 2012 döneminden 64 (% 87,6), Ocak 2013 döneminden 60 (% 90,9) izolatta pozitif bulunmuştur. Haziran 2012 dönemine ait 61 (% 83,5) ve Ocak 2013 dönemine ait 54 (% 81,8) *C. jejuni* izolatı *gyrA* genindeki mutasyonlar yönünden pozitif olarak saptanmıştır. Plazmid aracılı kinolon direnci amacıyla *qnr* geni, *C. jejuni* izolatlarının hiç birinde bulunamamıştır. Sekans analizi sonunda dirençli izolatlarda öncelikle 86. aminoasitte treonin (ACA), izolösin (ATA) mutasyonuna rastlanırken 3 duyarlı izolatta bu mutasyona rastlanmamıştır. Ayrıca dirençli ve duyarlı izolatlarda diğer aminoasitlerde (81., 119., 120. ve 121.) mutasyonların varlığı tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına uyumlu ya da farklı oranlara sahip çalışmalar bulunmaktadır. Bu

farklılıkların, kullanılan yöntem ya da mikroorganizmada kinolon direncine neden olan mekanizmanın farklı olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (23, 134).

Kampilobakterlerde makrolidlere karşı direnç, 23S rDNA üzerindeki ribozom bağlama bölgesinin değişimi (L4 ve L22) ve buna bağlı olarak şekillenen nokta mutasyonu (A2074C ve A2075G mutasyonları) sonucu olmaktadır (127, 137). Ayrıca, CmeABC efluks pompalarının bazı izolatlarda tilosin ve azitromisin MİK seviyelerini düşürdüğü ve makrolid direncine neden olabileceği de bildirilmiştir (23).

C. jejuni'lerin makrolid direncinin moleküler yöntemlerle incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Alonso ve ark. (151)'nin çalışmalarında 17'si eritromisin dirençli insan, gıda ve hayvan kaynaklı 20 *C. jejuni* 23SrRNA genindeki A2074C ve A2075G mutasyonların tespitini MAMA-PZR testi ile incelemişlerdir. Mevcut çalışmada olduğu gibi, yüksek düzeyde eritromisin direncine sahip izolatların tamamında A2075G mutasyonu gözlenirken; A2074C mutasyonuna rastlanmamıştır. Ayrıca eritromisine duyarlı izolatların hiçbirinde bu iki mutasyon gözlenmemiştir. Kurincic ve ark. (227) da, 36 *C. jejuni* izolatına yapılan testler sonucunda yüksek düzeyde eritromisin direnci bulunan izolatların tamamında A2075G mutasyonu gözlemiş, izolatların hiçbirinde A2074C mutasyonuna rastlamamışlardır. Eritromisine duyarlı izolatların hiçbirinde bu iki mutasyona rastlanmadığı rapor edilmiştir. Rozynek ve ark. (224) 149 *C. jejuni* izolatının eritromisin direncini moleküler yöntemlerle incelemişlerdir. Eritromisine dirençli olarak bulunan bir izolatta (MİK 24 mg/L) yapılan PZR-RFLP ve sekans analizi sonucunda A2074C ve A2075G mutasyonlarından herhangi birine rastlanmadığı bildirilmiştir. Amar ve ark. (228)'nin, çalışmalarında makrolid dirençli *C. jejuni* izolatlarına multipleks PZR ve DNA sekansı yapılmış, analizler sonucunda makrolid dirençli izolatlarda A2074C ve A2075G mutasyonlarından hiçbirinin bulunmadığı bildirilmiştir. Perez-Boto ve ark. (229)'nin çalışmalarında 678 *C. jejuni* izolatının eritromisin antibiyotikine karşı duyarlılığı moleküler yöntemlerle incelenmiştir. İki izolatta A2074C mutasyonu bulunduğu bunun dışında eritromisin dirençli izolatların tamamında A2075G mutasyonunun tespit edildiği bildirilmiştir. Logue ve ark. (230) tarafından yapılan çalışmada, 425 kampilobakter izolatının eritromisin direncinin moleküler yöntemlerle doğrulanması amacıyla 103 izolat, DNA sekans analizine tabi tutulmuştur. Fenotipik testlerle dirençli olarak tespit edilen bu izolatların 85'inde A2075G, 2'sinde ise A2074C mutasyonu bulunduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, Corcoran ve ark.

(231) yüksek düzeyde eritromisin dirençli 20 *C. jejuni* izolatında DNA sekans analizi sonucunda A2075G mutasyonu bulunurken hiçbir izolatta A2074C mutasyonuna rastlanmamıştır. Ayrıca duyarlı izolatların hiçbirinde bu iki mutasyondan birine rastlanmadığı rapor edilmiştir. Birçok çalışmada (137, 232) *C. jejuni* ve *C. coli*'de makrolid direncinde 23SrRNA bölgesinin V ilmiğindeki 2074 ve 2075 nokta mutasyonlarının *Escherichia coli*'deki 2058 ve 2059'a ya da *Helicobacter pylori*'deki 2142 ve 2143 mutasyonuna denk geldiği ve çalışmalarda bu sayıların kullanıldığı bildirilmiştir. Ladely ve ark. (233), 35 *C. jejuni* izolatının makrolid grubu antibiyotiklere (azitromisin, eritromisin ve tilosin) karşı direncinin genetik temelini araştırdıkları bir çalışmada sekans analizi sonucunda makrolid direncine sahip 9 *C. jejuni* izolatının 3'ünde 2059 pozisyonunda ve çalışmamızdan farklı olarak izolatların 6'sında 2058 pozisyonunda mutasyonların varlığı bildirilmiştir. Gibreel ve ark. (234), 23 makrolid dirençli kampilobakterlerde direncin mekanizmasını araştırdıkları bir çalışmada benzer şekilde PZR amplifikasyon testleri ve DNA sekans analizi sonucunda izolatların % 78'inde 23SrRNA geninin 2059 bazında (*E. coli* denkliği) A-G mutasyonu olduğunu ve sunulan bu çalışmadan farklı olarak izolatların % 13'ünde 23S rRNA geninin 2058 bazında (*E.coli* denkliği) A-C mutasyonu tespit etmişlerdir. Buna ilaveten bir izolatta da 23S rRNA geninin 2058 bazında (*E. coli* denkliği) A-G mutasyonu bulunduğu bildirilmiştir.

Haziran 2012 ve Ocak 2013 dönemine ait *C. jejuni* izolatlarında A2074C mutasyonuna rastlanmazken; Haziran 2012 dönemine ait 7 (% 18,4) ve Ocak 2013 dönemine ait 4 (% 14,8) izolatta A2075G mutasyonu tespit edilmiştir. Mutasyonların doğrulanması amacıyla makrolidlere dirençli 6 ve duyarlı 7 toplam 13 izolata DNA sekans analizi yaptırılmıştır. Sekans analizi sonucunda test edilen dirençli izolatlar arasında A2075G mutasyonu tespit edilirken; PZR testleriyle uyumlu olarak hiçbir izolatın sekans analizinde A2074C mutasyonuna rastlanmamıştır. Keza; duyarlı izolatların hiçbirinde de bu iki mutasyona rastlanmamıştır. Bu sonuçlarla uyumlu ve farklı sonuçlar veren çalışmalar bulunmaktadır. Bunun nedeni olarak direncin kaynağı gösterilebilmektedir. Şöyle ki; kampilobakterlerde makrolidlere karşı direnç, 23S rDNA üzerindeki ribozom bağlanma bölgesinin değişimi (L4 ve L22) ve buna bağlı olarak şekillenen nokta mutasyonu (A2074C ve A2075G mutasyonları) sonucu olmaktadır (127, 137).

Sonuç olarak;

Çalışmada, Kayseri Şehir merkezinde bulunan farklı satış noktalarında tüketime sunulan broiler karkaslarında *C. jejuni*'lerin yüksek oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Başlangıçta steril olarak kabul edilen sağlıklı kanatlı etleri kesim, yüzmeye, parçalama ve depolama sırasında barsak florasında bulunan *C. jejuni*'lerle kontamine olmaktadır. Bu nedenle, tüketicilerin, tavuk et ve et ürünlerini yeterince pişirmeden tüketmemesi, tavuk ürünlerine elle temas edildikten sonra ellerin mutlaka sabunla yıkanması gibi koruyucu tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Çalışma sonunda, *C. jejuni* izolatlarının, azitromisin, doksisisiklin ve eritromisin antibiyotiklere yüksek oranlarda duyarlı oldukları tespit edilmiş; bu nedenle eritromisine ilaveten azitromisin ve doksisisiklin antibiyotiklerinin alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Kanatlılarda bilinçsiz antibiyotik kullanımıyla birlikte, hayvan orijinli izolatlardan plazmid aracılı antibiyotik direnç genlerinin, insanlarda zoonotik öneme sahip kampilobakter izolatlarına aktarılmasının halk sağlığı açısından önemli risk kaynağı oluşturduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kampilobakterler arasında artan direnç oranlarını en alt seviyelere indirmek ve dirençli bakteri sayısını azaltmak için tedavide antibiyotik kullanımının bilinçlendirilmesi ve dar spektrumlu antibiyotik kullanımının tercih edilmesi gibi tedbirlerin alınmasının olumlu sonuçlar vereceği söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Vandamme P, De Ley J. Proposal for a new family, *Campylobacteraceae*. Int J Syst Bacteriol 1991; 41: 451-455
2. Diker KS. Gram negatif mikroaerofilik hareketli bakteriler, *Campylobacteriaceae* familyası. In: Arda M, Mimbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker K.S. (eds), Özel Mikrobiyoloji. 5ci Baskı. Ankara, Medisan Yayınevi, 1999: s 134
3. Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO. Collins&Lyne's Microbiological Methods (8th ed), Arnold Publisher, UK, 2004: 174-316
4. Carter GR, Wise DJ. Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology (6th ed), Iowa State Press, Iowa, 2004: 75-159
5. 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
6. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. Human Campylobacteriosis in developing countries. Emerg Infect Dis. 2002; 8(3): 237-244
7. Bahrani Mougeot FK, Donnenberg, MS. Enteropathogenic bacteria, In: Schaechter M Lederberg J (eds), The Desk Encyclopedia of Microbiology. USA, Elsevier Ltd, 2004: p 403-414
8. Humphrey T, O'Brien S, Madsen M. Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. Int J Food Microbiol 2007; 117: 237-257
9. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, Veterinary Microbiology and Microbial Diseases, Blackwell Science, USA, 2002: 168-172
10. Stanley K, Jones K. Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. J Appl Microbiol 2003; 94: 104-113
11. Vliet V, Ketley JM. Pathogenesis of Enteric *Campylobacter* infection. J Appl Microbiol 2001; 90: 45-56

12. Miller WG, Mandrell RE. Prevalence of *Campylobacter* in the food and water supply: Incidence, Outbreaks, Isolation and Detection, In: Ketley JM, Konkel ME (eds), *Campylobacter* Molecular and Cellular Biology. Horizon Bioscience, Norfolk, UK, 2005: p 101-163
13. Gormley FJ, MacRae M, Forbes KJ, et al. Has retail chicken played a role in the decline of human Campylobacteriosis? *Appl Environ Microbiol* 2008; 74, 383–390
14. Yılmaz AA, Tuğrul HM. Edirne’de ishal etkenleri arasında *Campylobacter* türlerinin yerinin ve antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Turk J Inf* 2005; 19: 53-59
15. Alterkruse SF, Tollefson KL. Human Campylobacteriosis: A challenge for the veterinary profession. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223(4): 445-452
16. Trachoo N. *Campylobacter jejuni*: An emerging pathogen. *Songklanakarin J Sci Technol* 2003; 25 (1): 140-157
17. Coşansu S, Ayhan K. *Campylobacter* türlerinin olumsuz koşullarda canlı kalmalarını sağlayan fizyolojik özellikleri ve stres tolerans mekanizmaları. *HRÜZF Dergisi*, 2009; 13 (4): 23-29
18. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Environmental survival mechanism of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* *J Appl Microbiol* 2006; 100: 623-632
19. Alfredson DA, Korolik V. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Fems Microbiol Lett* 2007; 277: 123-132
20. Cokal Y, Caner V, Sen A, Cetin C, Karagenc N. *Campylobacter* spp. and their antimicrobial resistance patterns in poultry: an epidemiological survey study in Turkey. *Zoonoses Public Health*. 2009; 56: 105–110
21. Savaşan S, Çiftçi A, Diker KS. Emergence of quinolone resistance among chicken isolates of *Campylobacter* in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 391-397

22. Garenaux A, Luchetti-Miganeh C, Ermel G, Barloy-Hubler F, De Jonge R, Newell D, Payot S, Federighi M, Tresse O, Guillou S, Ritz M. Better Understanding of the *Campylobacter conundrum*. Nova Science Publishers, Inc., USA, 2008: 3-40
23. Fitzgerald C, Whichard J, Fields PI, The Genus *Campylobacter*, In: Goldman E, Green LH (eds), Practical Handbook of Microbiology. 2nd ed. USA, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2009: p 564-574
24. Arıkoğlu Ç, Aydın F. Kars yöresinde evcil ve yabani hayvanlarda *Campylobacter jejuni*'nin prevalansı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 1997; 3 (2): 173-180
25. Debruyne L, Gevers D, Vandamme P, Taxonomy of the Family *Campylobacter*, In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 3-25
26. Butzler JP. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 868-876
27. Doyle MP. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*: an old pathogen of new concern J. Food Prot 1981; 44: 480-488
28. Arda M, Minbay A, Leloglu N, Aydın N, Akay Ö. Bakteriyel ve mikotik infeksiyon, Özel Mikrobiyoloji; Epidemiyoloji. Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 1992: 224-235
29. 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. Int J Syst Bacteriol 1973; 23(2): 122-134
30. Benjamin J, Leaper S, Owen RJ, Skirrow MB. Description of *Campylobacter laridis*, a new species comprising the nalidixic-acid resistant thermophilic *Campylobacter* (NARTC) group. Cuw Microbiol 1983; 8: 231-238
31. Fox JG, Chilvers T, Goodwin CS, et al. *Campylobacter mustelae*, a new species resulting from the elevation of *Campylobacter pylori* subsp. *mustelae* to species status. Int J Syst Bacteriol 1989; 39: 301- 303

32. Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP, Brock Biology of Microorganisms (13th ed), Pearson Education, San Francisco, CA, 2012: 388-1039
33. On SLW. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. J Appl Microbiol 2001; 90: 1-15
34. Foster G, Holmes B, Steigerwalt AG, et al. *Campylobacter insulaenigrae* sp. nov., isolated from marine mammals. Int J Syst Evol Microbiol 2004; 54: 2369-2373
35. Hansson I. Bacteriological and Epidemiological Studies of *Campylobacter* spp. in Swedish Broilers, Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2007: 22-25
36. İzgür M. *Campylobacter* Enfeksiyonları, In: Aydın N, Paracıklioğlu J (eds), Veteriner Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, 2006: 232-245
37. Inglis GD, Hoar BM, Whiteside DP, Morck DW. *Campylobacter canadensis* sp. nov., from captive whooping cranes in Canada. Int J Syst Evol Microbiol 2007; 57: 2636-2644
38. Debruyne L, On SL, De Brandt E, Vandamme P. Novel *Campylobacter lari*-like bacteria from humans and molluscs: description of *Campylobacter peloridis* sp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *concheus* subsp. nov. and *Campylobacter lari* subsp. *lari* subsp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2009; 59: 1126-1132
39. Zanoni RG, Debruyne L, Rossi M, Revez J, Vandamme P. *Campylobacter cuniculorum* sp. nov., from rabbits. Int J Syst Evol Microbiol 2009; 59: 1666-1671
40. Debruyne, L Broman, T Bergström S, et al. *Campylobacter subantarcticus* sp. nov., isolated from birds in the sub-Antarctic region. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60: 815-819
41. Rossi M, Debruyne L, Zanoni RG, et al. *Campylobacter avium* sp. nov., a hippurate-positive species isolated from poultry. Int J Syst Evol Microbiol 2009; 59: 2364-2369

42. York MK, Anaerobic Bacteriology. In: Isenberg HD, Garcia LS (eds), Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. Washington DC, ASM press, 2007
43. Aydin F, Atabay HI, Akan M. The isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* from domestic geese (*Anser anser*). J Appl Microbiol 2001; 90: 637-642
44. Kelly DJ. Complexity and Versatility in the Physiology and Metabolism of *Campylobacter jejuni*, In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. 2008: p 41-61
45. Polat E, Akut İshallerde *Campylobacter jejuni* ve Diğer Etyolojik Ajanların Hızlı Tanısında Moleküler Yöntemlerin Değeri, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Adana 2008
46. Buck GE, Kelly MT. Effect of moisture content of the medium on colony morphology of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. J Clin Microbiol 1981; 14(5): 585-586
47. Smibert RM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Ed. USA: Springer, 2005; 1145–1165
48. Geleijns K, Jacobs BC, Van Rijs W, et al. Functional polymorphisms in LPS receptors CD14 and TLR4 are not associated with disease susceptibility or *Campylobacter jejuni* infection in Guillain–Barre patients. J Neuroimmunol 2004; 150:132–138
49. Astorga AF, Alonso R. *Campylobacter* In: Liu D (Ed), Molecular detection of food-borne pathogens. CRC Press Taylor and Francis Group, USA, 2010: 345-360
50. Gilbert M, Godschalk PCR, Parker CT, Endtz HPh, Wakarchuk WW. Genetic Basis for the Variation in the Lipooligosaccharide Outer Core of *Campylobacter jejuni* and Possible Association of Glycosyltransferase Genes with Post-infectious Neuropathies In: Ketley JM, Konkel ME (eds), *Campylobacter* Molecular and Cellular Biology. Horizon Bioscience, Norfolk, UK, 2005: p 219-248

51. Karlyshev AV, Champion OL, Joshua GWP, Wren BW, The polysaccharide capsule of *Campylobacter jejuni* In: Ketley JM, Konkel ME (eds), *Campylobacter Molecular and Cellular Biology*. Horizon Bioscience, Norfolk, UK, 2005: p 249-258
52. Hirsh DC. Spiral-Curved Organisms III: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Lawsonia* In: Hirsh DC, MacLachlan NJ, Walker RL (eds), *Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Iowa, USA, Blackwell Publishing, 2004: p 134-140
53. Miller WG. Comparative genomics of *Campylobacter* species other than *Campylobacter jejuni*. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 73-95
54. Kelly DJ. The physiology and metabolism of *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *J Appl Microbiol* 2001; 90: 16-24
55. Duim B, Wagenaar J, Amplified Fragment-Length Polymorphism and Protein Profiling for Identification of *Campylobacter lari* Subgroups, In: O'Connor L (ed), *Diagnostic Bacteriology Protocols*. 2nd ed. Totowa, New Jersey, Humana Press Inc., 2006: p 119-130
56. Silva J, Leite Da Fernandes M, Mena C, Gibbs P. A, Teixeira P, *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review *Front Microbiol* 2011; 2 (200): 1-12
57. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, RohnerP, Piot P, Heuck CC. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology World Health Organization. Geneva, 2003: 46-106
58. Kochlerschmidt DJ, Musser KA, Dumas NB, Identification of Aerobic Gram-Negative Bacteria, In: Goldman E, Green LH (eds), *Practical Handbook of Microbiology*. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, USA. 2009: p 67-76
59. Garcia LS, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* (2nd ed), ASM Press, Washington, 2007:221
60. Corry JEL, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. *Int J Food Microbiol* 1995; 26: 43-76

61. Englen MD, Ladely SR, Fedorka-Cray PJ, Isolation of *Campylobacter* and Identification by PCR, In: Sachse K, Frey J (eds), PCR detection of Microbial Pathogens. Totowa, New Jersey, Humana Press Inc., 2003: p 109-121
62. Oyarzabal OA, Hussain SK, Microbial Analytical Methodology for Processed Poultry Products In: Guerrero-Legarreta I, Hui YH (eds), Handbook of Poultry Science and Terchnology Volume 2: Secondary Processing. John Wiley&Sons Inc. Publication. USA, 2010: p 527-544
63. Bolton FJ, Coates D, Hinchliffe PM, Robertson L. Comparison of selective media for isolation of *Campylobacter jejuni/coli*. J Clin Pathol 1983; 36: 78-83
64. Oyarzabal OA, Macklin KS, Barbaree JM, Miller RS. Evaluation of agar plates for direct enumeration of *Campylobacter* spp. from poultry carcass rinses. Appl Environ Microbiol 2005; 71 (6): 3351–3354
65. ANON (1995). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization (ISO)10272
66. Bolton FJ, Robertson L. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. J Clin Pathol 1982; 35: 462-467
67. Kim SA, Lee YM, Hwang IG, et al. Eight enrichment broths for the isolation of *Campylobacter jejuni* from inoculated suspensions and ground pork. Lett Appl Microbiol 2009; 49: 620–626
68. Cappelier JM, Minet J, Magras C, Colwell R, Federighi RM. Recovery in embryonated eggs of viable but nonculturable *Campylobacter jejuni* cells and maintenance of ability to adhere to hela cells after resuscitation. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 5154-5157
69. Barer MR. Viable but non-culturable and dormant bacteria: time to resolve an oxymoron and a misnomer. J Med Microbiol 1997; 46: 629-631
70. Ray B, Fundamental Food Microbiology (3rd ed), CRC Press, Taylor &Francis Group, USA, 2005: 361-389
71. 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*, *Camp.*

- coli*, *Camp. lari* and urease-positive thermophilic *campylobacters* (UPTC) in surface waters. J Appl Microbiol 2001; 90: 256-267
72. Zhang Q, Plummer PJ. Mechanisms of Antibiotic Resistance in *Campylobacter*, In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 263-276
 73. Ayaz ND, Erol İ. Canlı fakat kültürü yapılamayan bakteriler ve gıda güvenliği yönünden önemi. Etlik Vet Mikrobiol Derg 2004; 15: 61-74
 74. Cappelier JM, Lazaro B, Rossero A, Fernandez-Astorga A, Federighi M. Double staining (CTC-DAP) for detection and enumeration of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* cells. Vet Res 1997; 28: 547-555
 75. Joens LA, Haesebrouck F, Pasmans F, *Campylobacter* and *Helicobacter*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer G, Thoen CO (eds), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 4th ed. Wiley-Blackwell Publishing, USA, 2010: p 483-501
 76. Datta S, Niwa H, Itoh K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. J Med Microbiol 2003; 52: 345-348
 77. Martinez I, Mateo E, Churrua E, et al. Detection of *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC* genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. Int J Med Microbiol 2006; 296: 45-48
 78. Khoshbakht R, Tabatabaei M, Hosseinzadeh S, Shekarforoush SS, Aski HS. Distribution of nine virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from broiler feces in Shiraz, Southern Iran. Foodborne Pathog Dis 2013; 10(9): 764-770
 79. Da S. Quetz J, Lima IFN, Havt A, et al. *Campylobacter jejuni* infection and virulence associated genes in children with moderate to severe diarrhoea admitted to emergency rooms in Northeastern Brazil. J Med Microbiol 2012; 61: 507-513

80. Larson CL, Christensen JE, Pacheco SA, Minnich SA, Konkel ME. *Campylobacter jejuni* Secretes Proteins via the Flagellar Type III Secretion System That Contribute to Host Cell Invasion and Gastroenteritis. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 314-332
81. Konkel ME, Garvis SG, Tipton SL, Anderson Jr DE, Cieplak Jr W. Identification and molecular cloning of a gene encoding a fibronectin-binding protein (CadF) from *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol* 1997; 24: 953-963
82. Monteville MR, Konkel ME. Fibronectin-facilitated invasion of T84 eukaryotic cells by *Campylobacter jejuni* occurs preferentially at the basolateral cell surface. *Infect Immun* 2002; 70: 6665-6671
83. Monteville MR, Yoon JE, Konkel ME. Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization. *Microbiology* 2003; 149: 153-165
84. Ziprin RL, Young CR, Stanker LH, Hume ME, Konkel ME. The absence of cecal colonization of chicks by a mutant of *Campylobacter jejuni* not expressing bacterial fibronectin-binding protein. *Avian Dis* 1999; 43: 586-589
85. Ashgar SS, Oldfield NJ, Wooldridge KG, et al. CapA, an autotransporter protein of *Campylobacter jejuni*, mediates association with human epithelial cells and colonization of the chicken gut. *J Bacteriol* 2007; 189:1856-1865
86. Bolla JM, Loret E, Zalewski M, Pages JM. Conformational analysis of the *Campylobacter jejuni* porin. *J Bacteriol* 1995; 177: 4266-4271
87. De E, Jullien M, Labesse G, et al. MOMP (major outer membrane protein) of *Campylobacter jejuni*; a versatile pore-forming protein. *FEBS Lett* 2000; 469: 93-97
88. Pei Z, Blaser MJ. PEB1, The major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in gram-negative nutrient transport systems. *J Biol Chem* 1993; 268: 18717-18725

89. Pei Z, Burucoa C, Grignon B, et al. Mutation in the *pebA* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. *Infect Immun* 1998; 66: 938-943
90. Jin S, Joe A, Lynett J, et al. JlpA, a novel surface-exposed lipoprotein specific to *Campylobacter jejuni*, mediates adherence to host epithelial cells. *Mol Microbiol* 2001; 39: 1225-1236
91. Bacon DJ, Alm RA, Hu L, et al. DNA sequence and mutational analyses of the pVir plasmid of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infect Immun* 2002; 70: 6242–6250
92. Tracz DM, Keelan M, Ahmed-Bentley J, et al. pVir and bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* enteritis. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 838–843
93. Konkel ME, Kim BJ, Klena JD, Young CR, Ziprin R. Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 1998; 66: 3666–3672
94. Bras AM, Chatterjee S, Wren BW, Newell DG, Ketley JM. A novel *Campylobacter jejuni* two-component regulatory system important for temperature-dependent growth and colonization. *J Bacteriol* 1999; 181: 3298–3302
95. Ziprin RL, Young CR, Byrd JA, et al. Role of *Campylobacter jejuni* potential virulence genes in cecal colonization. *Avian Dis* 2001; 45: 549–557
96. Linton D, Gilbert M, Hitchen PG, et al. Phase variation of a b-1,3 galactosyltransferase involved in generation of the ganglioside GM1-like lipooligosaccharide of *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol* 2000; 37: 501–514
97. Carvalho ACT, Ruiz-Palacios GM, Ramos-Cervantes P, et al. Molecular characterization of invasive and noninvasive *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1353–1359
98. Popoff MR, Bacterial Exotoxins In: Russel W, Herwald H (eds), *Concepts in Bacterial Virulence*, Karger, Basel, Switzerland, 2005: p 28-54
99. Moat AG, Foster JW, Spector MP, *Microbial Physiology* (4th ed) Wiley-Liss John Wiley&Sons Inc. Publication. Canada, 2002: 290-660

100. Sleytr UB, Messner P, Crystalline bacterial cell surface layers (S Layers) In: Schaechter M and Lederberg J (eds), *The Desk Encyclopedia of Microbiology*, Elsevier Ltd, USA, 2004: p 285-293
101. Diker KS, Esendal OM, Akan M. Epidemiology of ovine *Campylobacter* infection determined by numerical analysis of electrophoretic protein profiles. *J Vet Med* 2000; 47: 739-743
102. On SLW. Taxonomy, phylogeny, and methods for the identification of *Campylobacter* species In: Ketley JM, Konkel ME (eds), *Campylobacter Molecular and Cellular Biology*. Horizon Bioscience, Norfolk, UK, 2005: p 13-42
103. Jimenez M, Soler P, Venanzi J D, et al. An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis in a school of Madrid, Spain. *Eurosurveillance*, 2005; 10 (4), 118-121
104. Lopez CM, Giacoboni G, Agostini A, et al. Thermotolerant *Campylobacter* in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. *Prev Vet Med* 2002; 55: 193-200
105. Padungton P, Kaneene JB. *Campylobacter* spp. in humans, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *J Vet Med Sci* 2003; 65: 161-170
106. Yardımcı H, Erdeğer J, Akan M, Yıldırım M. Civcivlerin deneysel *Campylobacter* enfeksiyonunda kolonizasyon, translokasyon ve antikor yanıtı. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 1367-1374
107. Abay S, Kayman T, Otlı B, et al. Genetic diversity and antibiotic resistance profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry and humans in Turkey. *Int J Food Microbiol* 2014; 178: 29-38
108. Wiecek K, Osek J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 340605. doi: 10.1155/2013/340605
109. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine*. (10th ed), Saunders, Elsevier, UK, 2006: 847-876
110. Diker KS, Istanbuluoglu E. Ovine abortion associated with *Campylobacter jejuni*. *Vet Rec* 1986;118: 307
111. Boden E, *Black's Veterinary Dictionary* (21th ed), UK, London, A&C Black, 2005: 111-112

112. Gerlach H, Bacteria In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), Avian Medicine: Principles and Application. Wingers Publishing, Inc, Lake Worth, Florida, 1994: p 949-983
113. Hanninen ML, *Campylobacter* in poultry processing. In: Guerrero-Legarreta I, Hui YH (eds), Handbook of Poultry Science and Terchnology Volume 2: Secondary Processing. USA, John Wiley&Sons Inc. Publication, 2010: p 495-506
114. Grajales-Lagunes A, De Anda-Salazar A, Canned Poultry Meat. In: Guerrero-Legarreta I, Hui YH (eds), Handbook of Poultry Science and Terchnology Volume 2: Secondary Processing. USA, John Wiley&Sons Inc. Publication, 2010: p 143-157
115. Jennings JL, Sait LC, Perrett CA, et al. *Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibronic hepatitis in chickens. Vet Microbiol 2011; 149: 193–199
116. Wang, WLL, Reller LB, Smallwood B, Luechtefeld NW, Blaser MJ. Evaluation of transport media for *Campylobacter jejuni* in human fecal specimens. J Clin Microbiol 1983; 18: 803-807
117. Aho M, Kauppi M, Hirn J. The stability of small number of campylobacteria in four different transport media. Acta Vet Scand 1988; 29: 437-442
118. Cary SG, Blair EB. New transport medium for shipment of clinical specimens. I. Fecal specimens. J Bacteriol 1964; 88: 96-98
119. Fitzgerald C, Whichard J, Nachamkin I. Diagnosis and Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter* species. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. 2008: p 227-244
120. Jacobs-Reitsma W, Lyhs U, Wagenaar J. *Campylobacter* in the Food Supply, In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. 2008: p 627-644
121. Aslanzadeh J. Biochemical Profile-Based Microbial Identification System. In: Tang YW, Stratton CW (eds), Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology. USA, Springer, 2006: p 84-116

122. Karenlampi RI, Tolvanen TP, Hänninen ML. Phylogenetic analysis and PCR-restriction fragment length polymorphism identification of *Campylobacter* species based on partial *groEL* gene sequences. J Clin Microbiol 2004; 42: 5731-5738
123. Loeffelholz M, Deng H. PCR and Its variations, In: Tang YW, Stratton CW (eds), Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology. USA, Springer, 2006: p 166-183
124. Gonzalez, I, Grant KA, Richardson PT, Park SF, Collins MD. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. J Clin Microbiol 1997; 35(3): 759-763
125. Fermer C, Engvall EO. Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic *Campylobacters*, *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, and *C.upsaliensis*. J Clin Microbol 1999; 37: 3370-3373
126. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. 1999: Özel Mikrobiyoloji. Beşinci Baskı, Medisan Yayın Serisi No: 26, Ankara
127. Taylor DE, Tracz DM, Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* In: Ketley JM, Konkel ME (eds), *Campylobacter* Molecular and Cellular Biology. Horizon Bioscience, Norfolk, UK, 2005: 193-204
128. Acheson DWK. Food-borne Illnesses In: Schaechter M, Lederberg J (eds), The Desk Encyclopedia of Microbiology. USA, Elsevier Ltd, 2004: p 480-498
129. Connerton IF, Connerton PI, Barrow P, Seal BS, Atterbury RJ, Bacteriophage Therapy and *Campylobacter* In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 679-693
130. Kayaalp SO, Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji (11ci Baskı), Hacettepe TAŞ, Ankara, 2005:145-238
131. Şanlı Y, Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri (3cü Baskı), Özkan Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 1999
132. Bilgehan H, Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi Uygulama Konuları ile (11ci Baskı), Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2005: 227-251

133. Gülay Z, Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi S, Tümbay E, Mete Ö (Eds), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999: p 91-108
134. Iovine NM. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. Virulence 2013; 4 (3): 230-240
135. Calderon CB, Sabundayo BP, Antimicrobial classifications: Drugs for Bugs, In: Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin AC (eds), Antimicrobial susceptibility testing protocols, USA, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007: p 9-52
136. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji (4cü Baskı), Asya Tıp Kitabevi, Bornova, İzmir, 2005: 19-47
137. Luangtongkum T, Jeon B, Han J, et al. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. Future Microbiol 2009; 4(2): 189-200
138. Signorini ML, Flores-Luna JL, Contamination of Poultry Products In: Guerrero-Legarreta I, Hui YH (eds), Handbook of Poultry Science and Terchnology Volume 2: Secondary Processing. John Wiley&Sons Inc. Publication. USA, 2010: p 463-483
139. Qi C, Stratton CW, Zheng X, Phenotypic Testing of Bacterial Antimicrobial Susceptibility, In: Tang YW, Stratton CW (eds), Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology. USA, Springer, 2006: 63-83
140. Levinson W, Jawetz E, Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji Çeviri Editörü: Tuncay Özgünen (7ci Baskı), Güneş Kitabevi, Ankara, 2004: 78-85
141. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. Klimik Derg 2001; 14: 41-46
142. Wang G, Clifford GC, Tracy MT, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. J Clinical Microbiol 2002; 40: 4744–4747
143. Aydın F, Gumussoy KS, Ica T, et al. The prevalence of *Campylobacter jejuni* in various sources in Kayseri, Turkey, and molecular analysis of isolated strains by PCR-RFLP. Turk J Vet Anim Sci 2007; 31(1): 13-19

144. Özkan Ö, Tavuk Orijinli Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Biofilm Özellikleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2012
145. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45(4):493–496
146. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. M31 S1. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2004
147. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. M31-A3. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 2008
148. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility test of infrequently isolated or fastidious bacteria. Approved Guideline. 2nd ed. CLSI Document M45-A2, Vol. 30 No.18 Replaces M-45-A Vol. 26 No.19 2010. CLSI, Wayne, PA
149. Gibreel A, Tracz DM, Nonaka L, et al. Incidence of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with special reference to *tet(O)*-mediated tetracycline resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(9): 3442-3450
150. On SLW, Harrington CS. Evaluation of numerical analysis of PFGE-DNA profiles for differentiating *Campylobacter fetus* subspecies by comparison with phenotypic, PCR and 16 sRNA sequencing methods. *J Appl Microbiol* 2001; 90(2): 285–293
151. Alonso R, Mateo E, Churrua E, et al. MAMA-PCR assay for the detection of point mutations associated with high-level erythromycin resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains. *J Micro Methods* 2005; 63: 99-103
152. Zirnstein G, Li Y, Swaminathan B, Angulo F. Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* isolates: detection of *gyrA* resistance mutations by mismatch amplification mutation assay PCR and DNA sequence analysis. *J Clin Microbiol* 1999; 37(10): 3276-3280

153. El-Adawy H, Hotzel H, Düpre S, et al. Determination of antimicrobial sensitivities of *Campylobacter jejuni* isolated from commercial turkey farms in Germany. *Avian Dis* 2012; 56: 685-692
154. Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47 (2): 559-562
155. Turner S, Pryer KM, Miao VPW, Palmer JD. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *J Eukaryot Microbiol* 1999; 46: 327-338
156. SPSS, 2001. SPSS Statistical Package for Windows, Version 14.0.1, (Serial: 9869264). SPSS Inc. Chicago, USA
157. Williams A, Oyarzabal OA. Prevalence of *Campylobacter* spp. in skinless, boneless retail broiler meat from 2005 through 2011 in Alabama, USA. *BMC Microbiology* 2012; 12, 184: 1-7
158. Mackiw E, Korsak D, Rzewuska K, Tomczuk K, Rozynek E. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control* 2012; 23: 297-301
159. Garin B, Gouali M, Wouafo M, et al. Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. *Int J Food Microbiol* 2012; 157: 102–107
160. Bernadette GG, Essoh AE, Solange KNE, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* isolated from chicken in C^{ote d'Ivoire}. *Int J Microbiol* 2012; 1-5
161. Mansouri-najand L, Salehe AA, Wai SS. Prevalence of multidrug resistance *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chickens slaughtered in selected markets, Malaysia. *Tropical Biomedicine* 2012; 29(2): 231–238
162. Yildirim M, Istanbuluoglu E, Ayvali B. Prevalence and antibiotic susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species in broiler chickens. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 655-630

163. Rosenquist H, Boysen L, Krogh AL, Jensen AN, Nauta M. *Campylobacter* contamination and the relative risk of illness from organic broiler meat in comparison with conventional broiler meat. *Int J Food Microbiol* 2013; 162(3): 226-230
164. Refregier-Petton J, Rose N, Denis M, Salvat G. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev Vet Med* 2001;50: 89-100
165. Bouwknecht M, Van de Giessen AW, Dam-Deisz WD. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Prev Vet Med* 2004; 62(1): 35-49
166. Barış A, Kanatlı Etlerinden Farklı Yöntemler Kullanılarak *Campylobacter* spp.'nin İzolasyonu ve İzolatların multipleks Polimerase Chain Reaction'la İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri 2011
167. Habib I, Sampers I, Uyttendaele M, Berkvens D, De Zutter L. Baseline data from a Belgium-wide survey of *Campylobacter* species contamination in chicken meat preparations and considerations for a reliable monitoring program. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(17): 5483–5489
168. Atabay HI, Corry JEL. Evaluation of a new arcobacter enrichment medium and comparison with two media developed for enrichment of *Campylobacter* spp. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 53-58
169. Kalupahana RS, Kottawatta KSA, Kanankege KST, et al. Colonization of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and laying hens reared in tropical climates with low-biosecurity housing. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79(1): 393-395
170. Lucey B, O'Halloran F, Fanning S. Molecular-based identification and typing of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Methods Mol Biol* 2004; 268: 33-47
171. Rodrigo S, Adesiyun A, Asgarali Z, Swanston W. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from broilers in small poultry processing operations in Trinidad. *Food Control* 2007; 18: 321-325

172. Mead GC, Hudson WR, Hinton MH. Effect of changes in processing to improve hygiene control on contamination of poultry carcasses with *Campylobacter*. *Epidemiol Infect* 1995;115: 495- 500
173. Aarestrup FM, McDermott PF, Wegener HC. Transmission of antibiotic resistance from food animals to humans. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (eds), *Campylobacter*. 3rd ed. Washington DC, ASM Press, 2008: p 645-655
174. Bester LA, Essack SY. Prevalence of antibiotic resistance in *Campylobacter* isolates from commercial poultry suppliers in KwaZulu-Natal, South Africa. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 1298–1300
175. Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, et al. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27: 199-208
176. Reina J, Ros MJ, Serra A. Susceptibilities to 10 antimicrobial agents of 1,220 *Campylobacter* strains isolated from 1987 to 1993 from feces of pediatric patients. *J Antimicrob Chemother* 1994; 38: 2917-2920
177. Ruiz J, Goni P, Marco F, et al. Increased resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni*: a genetic analysis of *gyrA* gene mutations in quinolone-resistant clinical isolates. *Microbiol Immunol* 1998; 42: 223-226
178. Karmali MA, De Gradis S, Fleming PC. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* with special reference to resistance patterns of Canadian isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 19: 593-597
179. Gaudreau C, Gilbert H. Comparison of disc diffusion and a gar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 707-712
180. Rahimi E, Ameri M. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, turkey, quail, partridge, and ostrich meat in Iran. *Food Control* 2011; 22: 1165-1170

181. Andersen SR, Saadbye P, Shukri NM, et al. Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark. *Int J Food Microbiol* 2006; 107: 250-255
182. Obeng AS, Rickard H, Sexton M, et al. Antimicrobial susceptibilities and resistance genes in *Campylobacter* strains isolated from poultry and pigs in Australia. *J Appl Microbiol* 2012; 113: 294-307
183. Senok A, Yousif A, Mazi W, et al. Pattern of antibiotic susceptibility in *Campylobacter jejuni* isolates of human and poultry origin. *Jpn J Infect Dis* 2007; 60 (1) :1-4
184. Wieczorek K, Szewczyk R, Osek J. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from retail raw meat in Poland. *Veterinari Medicina* 2012; 57 (6): 293–299
185. Gür D, Hasçelik G, Akyön Y, Akalın HE, Diker S. *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin quinolone grubu antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul* 1989; 23(3): 185-189
186. Akan ÖA, Hasçelik G, Akyön Y, Yurdakök K. *Campylobacter* türlerinin çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul* 1994; 28(2): 122-126
187. Yıldırım MS, Sümerkan B, Fazlı ŞA. Dışkı kültürlerinden izole edilen *Campylobacter* türlerinin antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları. *ANKEM* 1996; 10(4): 393-398
188. Oncul O, Zarakolu P, Oncul O, Gur D. Antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter jejuni*: a comparison between Etest and agar dilution method. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45(1): 69-71
189. Öngen B, Nazik H, Kaya I. Rutin dışkı kültürlerinde üretilen *Campylobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları: 5 yıllık sonuçların değerlendirilmesi. *ANKEM* 2007; 21(1): 37-41
190. Güney M, Başustaoğlu AC. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Eğitim Hastanesi'nde akut bakteriyel gastroenterit etkenleri arasında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin yeri ve bunların antimikrobiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2010; 40(3): 183-192

191. Çakmak Ö. Hindi Etlerinde *Campylobacter jejuni* 'nin Kültür Tekniği ve PCR ile Saptanması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 2009
192. Han K, Jang SS, Choo E, Heu S, Ryu S. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from retail raw chickens in Korea. Int J Food Microbiol 2007; 114: 50–59
193. Wirz SE, Overesch G, Kuhnert P, Korczak BM. Genotype and antibiotic resistance analyses of *Campylobacter* isolates from ceca and carcasses of slaughtered broiler flocks. Appl Environ Microbiol 2010; 76(19): 6377-6386
194. Humphrey T, Jorgensen JF, Frost JA, et al. Prevalence and subtypes of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. in commercial poultry flocks before, during, and after treatment with fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 2005;49: 690–698
195. Jacobs-Reitsma W, Kan FCA, Bolder NM. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. Lett Appl Microbiol 1994; 19:228–231
196. Haruna M, Sasaki Y, Murakami M, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* in broiler flocks in Japan. Zoonoses and Public Health 2012; 59: 241–245
197. Perez-Boto D, Garcia-Pena FJ, Abad-Moreno JC, Echeita MA. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from two early stages of poultry production. Microbial Drug Resistance 2013; 19 (4): 323-330
198. Kos VN, Keelan M, Taylor DE. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry from Alberta, Canada. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50 (2): 778-780
199. Habib I, Miller WG, Uyttendaele M, Houf K, De Zutter L. Clonal population structure and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* in chicken meat from Belgium. Appl Environ Microbiol 2009; 75(13): 4264-4272

200. Luber P, Wagner J, Hahn H, Bartelt E. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(12): 3825-3830
201. Zhao S, Young SR, Tong E, et al. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from retail meat in the United States between 2002 and 2007. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76(24): 7949-7956
202. Thibodeau A, Fravalo P, Laurent-Lewandowski S, et al. Presence and characterization of *Campylobacter jejuni* in organically raised chickens in Quebec. *Can J Vet Res* 2011;75: 298–307
203. Öztürk R, Midilli K, Okyay K ve ark. Çocuk ve erişkin yaş grubu sürgün olgularında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* sıklığının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1994; 24(1): 42-45
204. Sagara H, Mochizuki A, Okamura N, Nakaya R, Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* with special reference to plasmid profiles of Japanese clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 713-719
205. Nachamkin I. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to ciprofloxacin, erythromycin and tetracycline from 1982 to 1992. *Med Microbiol Lett* 1994; 3: 300-305
206. Lee CY, Tai CL, Lin SC, Chen YT. Occurrence of plasmids and tetracycline resistance among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from whole market chickens and clinical samples. *Int J Food Microbiol* 1994; 24: 161-170
207. Li CC, Chiu CH, Wu JL, Huang YC, Lin TY. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in Taiwan. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 39-42
208. Jeon B, Muraoka W, Sahin O, Zhang Q. Role of Cj1211 innatural transformation and transfer of antibiotic resistance determinants in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 2699–2708

209. Hoge CW, Gambel JM, Srijan A, Pitarangsi C, Ech-everria P. Trends in antibiotic resistance among diarrheal pathogens isolated in Thailand over 15 years. Clin Infect Dis 1998;26: 341-345
210. Tambur ZZ, Stojanov IM, Konstantinovia SM, et al. Multi drug resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to tested antibiotics in strains originating from humans, poultry and swine. Proc Nat Sci 2010; 118: 27-35
211. Ku BK, Kim HJ, Lee YJ, et al. Genetic characterization and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. isolated from domestic and imported chicken meats and humans in Korea. Foodborne Pathog Dis 2011; 8(3): 381-386
212. Salihu MD, Junaidu AU, Magaji AA, Yakubu Y. Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* isolates from commercial broiler flocks in Sokoto, Nigeria. Res J Vet Sci 2012; 5(2): 51-58
213. Cardinale E, Dromigny JA, Tall F, et al. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* strains isolated from chicken carcasses in Senegal. Revue Elev Med Vet Pays Trop 2002; 55 (4): 259-264
214. Uzunovic-Kamberovic S, Zorman T, Berce I, Herman L, Mozione SS. Comparison of the frequency and the occurrence of antimicrobial resistance among *C. jejuni* and *C. coli* isolated from human infections retail poultry meat and poultry in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. Med Glas 2009; 6(2): 173-180
215. Hariharan H, Sharma S, Chikweto A, Matthew V, DeAllie C. Antimicrobial drug resistance as determined by the E-test in *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, and *C. lari* isolates from the ceca of broiler and layer chickens in Grenada. Comp Immun Microbiol Infect Dis 2009; 32: 21–28
216. Miflin JK, Templeton JM, Blackall PJ. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from poultry in the South-East Queensland region. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 775-778
217. Pratt A, Korolik V. Tetracycline resistance of Australian *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. J Antimicrob Chemother 2005; 55: 452-460

218. Dasti JI, Groß U, Pohl S, et al. Role of the plasmid-encoded tet(O) gene in tetracycline-resistant clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J Med Microbiol 2007; 56: 833–837
219. Oyarzabal OA, Backert S, Williams LL, et al. Molecular typing, serotyping and cytotoxicity testing of *Campylobacter jejuni* strains isolated from commercial broilers in Puerto Rico. J Appl Microbiol 2008; 105: 800-812
220. Mazi W, Senok A, Al-Mahmeed A, et al. Trends in antibiotic sensitivity pattern and molecular detection of tet(O)-mediated tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from human and poultry sources. Jpn J Infect Dis 2008; 61: 82-84
221. Bakeli G, Sato K, Kumita W, et al. Antimicrobial susceptibility and mechanism of quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* strains isolated from diarrheal patients in a hospital in Tokyo. J Infect Chemother 2008; 14: 342–348
222. Sonnevend A, Kovacs J, Pal T, et al. Lack of correlation between the 257C-to-T mutation in the *gyrA* gene and clinical severity of *Campylobacter jejuni* infection in a region of high incidence of ciprofloxacin resistance. Scand J Infect Dis 2011; 43: 905–911
223. Said MM, El-Mohamady H, El-Beih FM, et al. Detection of *gyrA* mutation among clinical isolates of *Campylobacter jejuni* isolated in Egypt by MAMA PCR. J Infect Dev Ctries 2010; 4(9): 546-554
224. Rozynek E, Dzierzanowska-Fangrat K, Korsak D, et al. Comparison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from humans and chicken carcasses in Poland. J Food Prot 2008; 71(3): 602-607
225. Helmi H, Aboul Fadl L, El Defrawy I. Molecular study of ciprofloxacin resistant *Campylobacter* clinical isolates. Res J Medicine & Med Sci 2009; 4(2): 542-549
226. Kayman T, Abay S, Hızlısoy H, Gödekmerdan A, Aydın F. *Campylobacter jejuni* izolatlarında siprofloksasin direncinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle analizi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 10-13 Kasım 2013, ANTALYA

227. Kurincic M, Botteldoorn N, Herman L, Smole-Mozina S. Mechanisms of erythromycin resistance of *Campylobacter* spp. isolated from food, animals and humans. *Int J Food Microbiol* 2007; 120: 186-190
228. Amar C, Kittl S, Spreng D, et al. Genotypes and antibiotic resistance of canine *Campylobacter jejuni* isolates. *Vet Microbiol* 2014; 168(1): 124-130
229. Perez-Boto D, Lopez-Portoles JA, Simon C, Valdezate S, Echeita MA. Study of the molecular mechanisms involved in high-level macrolide resistance of Spanish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(10): 2083-2088
230. Logue CM, Danzeisen GT, Sherwood JS, et al. Repeated therapeutic dosing selects macrolide-resistant *Campylobacter* spp. in a turkey facility. *J Appl Microbiol* 2010; 109: 1379-1388
231. Corcoran D, Quinn T, Cotter L, Fanning S. An investigation of the molecular mechanisms contributing to high-level erythromycin resistance in *Campylobacter*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 40-45
232. Vacher S, Menard A, Bernard E, Megraud F. PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for detection of point mutations associated with macrolide resistance in *Campylobacter* spp.. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(3): 1125-1128
233. Ladely SR, Meinersmann RJ, Englen MD, Fedorka-Cray PJ, Harrison MA. 23S rRNA gene mutations contributing to macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Foodborne Pathog Dis* 2009; 6(1): 91-98
234. Gibreel A, Kos VN, Keelan M, et al. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: molecular mechanism and stability of the resistance phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(7): 2753-2759

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Harun HIZLISOY

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 13 Haziran 1980, Kayseri

Medeni Durumu: Evli

Tel: 05059184944

email: hizlisoy@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Yenidoğan mah. Bilge Kağan cad.

Toki kümeevler, C3-9 Kat:5 No8/21 PK.38280 Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	ER.Ü.Veteriner Fakültesi, Kayseri	1998-2003
Yüksek lisans	ER.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji A.B.D., Kayseri	2006-2009
Doktora	ER.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Mikrobiyoloji A.B.D., Kayseri	2009-2014

YABANCI DİL

İngilizce