



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**SAHİPSİZ KÖPEKLERİN AĞIZ MİKROBİYOTASINDA
ARCOBACTER SPP., *CAMPYLOBACTER SPP.* VE *HELICOBACTER
SPP.*'NİN KÜLTÜREL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Ayşe Birsen GÖKALP**

**Danışman
Prof. Dr. Fuat AYDIN**

Doktora Tezi

**Ağustos 2023
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

SAHİPSİZ KÖPEKLERİN AĞIZ MİKROBİYOTASINDA
***ARCOBACTER SPP.*, *CAMPYLOBACTER SPP.* VE**
***HELICOBACTER SPP.*'NİN KÜLTÜREL VE MOLEKÜLER**
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Ayşe Birsen GÖKALP

Danışman
Prof. Dr. Fuat AYDIN

Doktora Tezi

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TDK-2021-11300 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2023
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Ayşe Birsen GÖKALP

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sahipsiz Köpeklerin Ağız Mikrobiyotasında *Arcobacter spp.*, *Campylobacter spp.* ve *Helicobacter spp.*’nin Kültürel ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması” adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Ayşe Birsen GÖKALP

Danışman
Prof. Dr. Fuat AYDIN

Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Fuat AYDIN

Prof. Dr. Fuat AYDIN danışmanlığında **Ayşe Birsen GÖKALP** tarafından hazırlanan “**Sahipsiz Köpeklerin Ağız Mikrobiyotasında *Arcobacter spp.*, *Campylobacter spp.* ve *Helicobacter spp.*’nin Kültürel ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../2023

JÜRİ

İmza

Danışman : Prof. Dr. Fuat AYDIN

Üye : Prof. Dr. Murat YILDIRIM

Üye : Prof. Dr. Öznur ASLAN

Üye: Prof. Dr. Seçil ABAY

.

Üye: Prof. Dr. Fatih BÜYÜK.....

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması hususlarında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından ötürü tez danışmanım Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Fuat AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca TDK-2021-11300 proje kodu ile tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Birim Personeline, tez çalışmamın laboratuvar aşamasında yardımcı olan Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Seçil ABAY, Prof. Dr. Kadir Semih GÜMÜŞSOY ve öğretim elemanı Arař. Gör. Dr. Emre KARAKAYA'ya ve tez çalışmasının istatistiksel analizlerinin yapılmasında çok önemli yardımları bulunan İstanbul Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliđi Bölümü doktora öğrencisi Osman EROĐLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım süresince ve yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için annem, babam ve kardeşlerime, birçok fedakârlıklar gösterip, her koşulda yanımda olan ve beni destekleyen sevgili eşime ve çocuklarıma en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Ayşe Birsen GÖKALP

Kayseri, Ağustos 2023

**SAHİPSİZ KÖPEKLERİN AĞIZ MİKROBİYOTASINDA
ARCOBACTER SPP., CAMPYLOBACTER SPP. VE
HELICOBACTER SPP.'NİN KÜLTÜREL VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Ayşe Birsen GÖKALP

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Ağustos 2023

Danışman: Prof. Dr. Fuat AYDIN

ÖZET

Bu çalışmada, Yozgat Belediyesi Geçici Hayvan Barınağı'nda bulunan sahipsiz köpeklerin ağız boşluğundan alınan fırça örneklerinden *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, rastgele olarak seçilen 88 sahipsiz köpekten toplanan ağız fırça örnekleri, materyal olarak kullanıldı. *Arcobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla, Cephoperazone-Amphotericin-Teicoplanin (CAT) supplement içeren modified charcoal cefoperazone deoxycholate (mCCD) agara, *Campylobacter* spp. izolasyonu amacıyla, Skirrow supplement içeren %7 koyun kanlı agara, *Helicobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla da, Dent supplement ve %7 at kanı içeren Columbia Blood Agara (CBA) direkt ekim yapıldı. Ayrıca, anılan her üç bakterinin izolasyonunda ön zenginleştirme amacıyla, *Arcobacter* spp. için CAT supplement, *Campylobacter* spp. için Skirrow supplement ilaveli Brucella Broth'a, *Helicobacter* spp. için ise %7 at kanı ve Dent supplement ilave edilmiş Brain Heart Infusion yarı katı besiyerine ekim yapıp, inkubasyona bırakıldı. Ön zenginleştirme işlemini takiben membran filtrasyon tekniğinden yararlanıldı. İnkubasyon süresi sonunda, şüpheli kolonilerin saf kültürleri elde edildi ve fenotipik identifikasyon amacıyla, Gram boyama, hareket, oksidaz, katalaz ve hippurat vb. testleri gerçekleştirildi. Hem kültürel analiz sonrası elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve

Helicobacter spp. izolatlarının identifikasyonu hem de ağız fırça örneklerinden bu etkenlerin saptanması amacıyla yapılan Polimeraz Chain Reaction (PCR) analizlerinde kullanılmak üzere DNA ekstraktları, ticari kit eşliğinde elde edildi. Moleküler identifikasyon amacıyla, genus ve tür spesifik PCR yöntemlerinden yararlanıldı. Kültürel yoklamalar sonucunda incelenen 88 ağız fırça örneğinin 15 (%17)'i *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulunurken, örnekler *Arcobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. yönünden kültür negatif saptandı. Yine 88 fırça örneğinin direkt PCR analizi sonucu, 4 (%4.5)'ü *Arcobacter* spp., 80 (%91)'i *Campylobacter* spp. ve 30 (%34)'ü *Helicobacter* spp. yönünden pozitif saptandı. Sonuç olarak, insanlar ile fiziksel temas halinde olan sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasında *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. varlığının, halk sağlığı açısından potansiyel bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ağız mikrobiyotası, *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp., sahihsiz köpek

**INVESTIGATION OF *ARCOBACTER* SPP., *CAMPYLOBACTER*
SPP. AND *HELICOBACTER* SPP. IN THE ORAL MICROBIOTA
OF STRAY DOGS BY CULTURAL AND MOLECULAR
METHODS**

Ayşe Birsen GÖKALP

Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences

Department of Veterinary Microbiology

PhD. Thesis, August 2023

Supervisor: Prof. Dr. Fuat AYDIN

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. and *Helicobacter* spp. from brush samples taken from the oral cavity of stray dogs in Yozgat Municipality Temporary Animal Shelter by cultural and molecular methods. For this purpose, mouth brush samples collected from 88 randomly selected stray dogs were used as material. For the isolation of *Arcobacter* spp. direct inoculation was performed on modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar (mCCD) containing Cephoperazone-Amphotericin-Teicoplanin (CAT) supplement; for the isolation of *Campylobacter* spp. direct inoculation was performed on 7% sheep blood agar containing Skirrow supplement, and for the isolation of *Helicobacter* spp. direct inoculation was performed on Columbia Blood Agar (CBA) containing Dent supplement and 7% horse blood. In addition, in order to pre-enrich the isolation of these three bacteria, the samples were inoculated to Brucella Broth (BB) supplemented with CAT supplement for *Arcobacter* spp. and BB supplemented with Skirrow for *Campylobacter* spp.; and were inoculated to Brain Heart Infusion semi-solid medium supplemented with 7% horse blood and Dent supplement for *Helicobacter* spp. and left to incubation. Following the pre-enrichment process,

membrane filtration technique was used. At the end of the incubation period, pure cultures of suspected colonies were obtained and Gram staining, motility, oxidase, catalase and hippurate tests were performed for phenotypic identification. DNA extracts were obtained with a commercial kit for both the identification of *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. and *Helicobacter* spp. isolates obtained after cultural examination and Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis for the detection of these agents from oral brush samples. Genus and species specific PCR methods were used for molecular identification. Genus and species specific PCR methods were used for molecular identification. As a result of cultural examinations, 15 (17%) of 88 oral brush samples were positive for *Campylobacter* spp. while the samples were culture negative for *Arcobacter* spp. and *Helicobacter* spp. Direct PCR analysis of 88 brush samples showed that 4 (4.5%) were positive for *Arcobacter* spp., 80 (91%) for *Campylobacter* spp. and 30 (34%) for *Helicobacter* spp. In conclusion, it is thought that the presence of *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. and *Helicobacter* spp. in the oral microbiota of stray dogs in physical contact with humans may be a potential risk factor for public health.

Keywords: *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp., oral microbiota, stray dog

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	V
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	VI
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	Vii
TEŞEKKÜR	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	XI
İÇİNDEKİLER	xiii
KISALTMALAR.....	Xvi
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	Xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. <i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> ve <i>Helicobacter</i> 'in Tarihçesi.....	7
2.2. <i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> ve <i>Helicobacter</i> Genuslarının Taksonomisi	10
2.3. <i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> ve <i>Helicobacter</i> Genuslarının Karakteristik Özellikleri.....	16
2.3.1. Morfolojik ve Kültür Özellikleri	16
2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri.....	17
2.3.3. Virulens Özellikleri	21
2.4. <i>Arcobacter</i> , <i>Campylobacter</i> ve <i>Helicobacter</i> 'lerin İzolasyonu	22

2.5. <i>Arcobacter</i>, <i>Campylobacter</i> ve <i>Helicobacter</i>'lerin İdentifikasyonu	24
2.5.1. Fenotipik Testler.....	24
2.5.2. Moleküler Testler	25
2.5.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	25
2.5.2.2. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç	27
3.1.1. Örneklerin Toplanması.....	27
3.1.2. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp.'nin İzolasyon ve .. İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplement ve Kimyasallar	27
3.1.3. Standart Suş.....	31
3.1.4. Moleküler Analizde Kullanılan Kimyasallar.....	32
3.2. Yöntem	34
3.2.1. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp.'nin İzolasyonu .	34
3.2.1.1. <i>Arcobacter</i> spp. İzolasyonu.....	34
3.2.1.2. <i>Campylobacter</i> spp. İzolasyonu.....	35
3.2.1.3. <i>Helicobacter</i> spp. İzolasyonu.....	36
3.2.2. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp. İzolatlarının İdentifikasyonu	40
3.2.2.1. Fenotipik Testler.....	40
3.2.2.2. Moleküler İdentifikasyon.....	41
3.2.2.2.1. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Camplobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp.'nin PCR ile Genus düzeyinde tanımlanması.....	42
3.2.2.2.2. <i>Arcobacter</i> spp. ve <i>Campylobacter</i> spp.'nin Multiplex PCR (mPCR) ile tür düzeyinde tanımlanması.....	43
3.2.3. İstatiksel Analiz.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. <i>Arcobacter</i> spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	45
4.2. Ağız Fırça Örneklerinden <i>Arcobacter</i> spp. Varlığının PCR İle Araştırılması	45
4.3. <i>Campylobacter</i> spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu	46
4.4. Ağız Fırça Örneklerinden <i>Campylobacter</i> spp. Varlığının PCR İle Araştırılması	47
4.5. <i>Helicobacter</i> spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	48

4.6. Ağız Fırça Örneklerinden <i>Helicobacter</i> spp. Varlığının PCR İle Araştırılması	48
4.7. İstatistiksel Bulgular	51
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
7. KAYNAKLAR	61

EKLER

ÖZGEÇMİŞ



KISALTMALAR

μ l	: Mikrolitre
μ m	: Mikrometre
$^{\circ}$ C	: Santigrat Derece
API	: Analitik Profil İndeksi
ASB	: Arkobakter Selektif Besiyeri
BHI	: Beyin Kalp İnfüzyonu Agar
bp	: Base Pair
CaqA	: Sitokinle İlişkili Protein A
CAT	: Cefoperazone-Amphotericin B-Teikoplanin
CBA	: Columbia Blood Agar
CDT	: Cytolethal Distending Toksin
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
CO ₂	: Karbondioksit
CVA	: Cephalotin-Vancomycin-Amphotericin B
DNA	: Deoksiribonukleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotid Trifosfat
F12	: Ham's F-12 Nutrient Mixture
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
g	: Gram
G+C	: Guanin + Sitozin
H ₂	: Hidrojen
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
IL-8	: İnterleukin-8
JM	: Johnson-Murano Agar
JMB	: Johnson-Murano Besiyeri
kb	: Kilo Base
KCl	: Potasyum Klorür

LPS	: Lipopolisakkarit
mA	: Miliamper
MALT	: Mukoza İlişkili Lenfoid Doku Lenfoması
mCDDA	: Modified Charcoal Cephoperazone Deoxycholate Agar
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
mPCR	: Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NaCl	: Sodyum klorür
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NHPH	: Non- <i>Helicobacter pylori Helicobacter</i>
O ₂	: Oksijen
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DGGE	: Denature Gradyan Jel Elektroforezi
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
spp.	: Species
subsp.	: Subspecies
T4SS	: Tip IV Salgı Sistemi
TBE	: Tris-Borate-EDTA Buffer
Tris-HCl	: Tris Hydrochloride
TSA	: Tryptic soy agar
TSI	: Triple Sugar İron Agar
V	: Volt
VacA	: Vakuolize Edici Sitotoksin A

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
	<u>No</u>
Tablo 2.1. <i>Arcobacter</i> Türleri ve İzole Edildiği Kaynaklar.....	11
Tablo 2.2. <i>Campylobacter</i> Türleri ve Bulunduğu Konaklar.....	13
Tablo 2.3. <i>Helicobacter</i> Türleri ve İzole Edildiği Örnekler.....	15
Tablo 2.4. Bazı <i>Arcobacter</i> Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri.....	18
Tablo 2.5. Bazı <i>Campylobacter</i> Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri.....	19
Tablo 2.6. Bazı <i>Helicobacter</i> Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri...	20
Tablo 3.1. Moleküler analizde kullanılan primer listesi.....	33
Tablo 4.1. <i>Campylobacter</i> spp. (n=19) izolatlarının fenotipik identifikasyonu amacıyla kullanılan testler ve sonuçlar....	47
Tablo 4.2. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp.'nin analiz sonuçlarının ki-kare testleri.....	52
Tablo 4.3. <i>Arcobacter</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ve <i>Helicobacter</i> spp.'nin kültürel yoklama ve moleküler identifikasyon sonuçlarının çapraz tablo analizi.....	53
Şekil 3.2.2.1. <i>Arcobacter</i> spp. izolasyon aşamaları, direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim.....	37
Şekil 3.2.2.2. <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon aşamaları direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim.....	38
Şekil 3.2.2.3. <i>Helicobacter</i> spp. izolasyon aşamaları direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim.....	39
Şekil 4.2.1. <i>Arcobacter</i> Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü.....	45
Şekil 4.2.2. <i>Arcobacter</i> tür spesifik mPCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü.....	46
Şekil 4.4.1. <i>Campylobacter</i> Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü.....	48

Şekil 4.6.1.	<i>Helicobacter</i> Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü.....	49
Şekil 4.6.2.	Köpek ağız fırça örneklerinin (n=88) ilgili mikroorganizmalar yönünden kültürel ve moleküler yöntem ile araştırılmasının sonuçları.....	50



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Arcobacter genusu besin zinciri boyunca yayılabilen ve farklı yaşam alanlarında geniş çapta dağılmış bakteri türlerini içermektedir. Kentsel kanalizasyondan, hayvanlardan ve kıyı sularından izole ve tanımlanmış yeni türler ile birlikte, genus içerisindeki tür sayısının önemli derecede arttığı görülmektedir (Gabucci ve ark., 2023). *Arcobacter* türleri insanlardan ve hayvanlardan alınan çeşitli klinik örnekler, kanalizasyon, akarsular ve nehirler, içme suyu, gıdalar ve çevresel kaynaklardan izole edilmiştir (Çelik ve Otlu, 2020). Ayrıca tavuk eti, sığır eti ve domuz eti gibi çeşitli hayvansal ürünlerden de izole edilmiştir (Ridsale ve ark., 1998; Kabeya ve ark., 2004). Bununla beraber, süt, peynir, deniz ürünleri ve balık gibi hayvansal kaynaklı gıda ürünleri ve çiğ sebzelerden de *A. butzleri* izole edilmiş olup, insanlarda görülen *Arcobacter* enfeksiyonlarının kaynağı olarak bu gıdalar gösterilmektedir (Gabucci ve ark., 2023). Buna göre, *A. butzleri* ile ilişkili enfeksiyonlar zoonotik enfeksiyon olarak kabul edilir. İnsanlara bu etkenin çevresel kaynaklı bulaşmasında, et kontaminasyonunun, kesim işlemi sırasında hayvanların gastrointestinal içeriğinin etrafa saçılmasından kaynaklandığı öngörülmektedir. Ayrıca, gıda işleme ve depolama sürecindeki olumsuz çevre koşulları, bu mikroorganizmanın insanlara bulaşmasında etkin rol oynamaktadır (Binder ve ark., 2023).

Arcobacter türleri, insanlarda ve hayvanlarda gastroenteritin önde gelen sebeplerinden olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır (Goni ve ark., 2017). İnsanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyon oluşturabilen en yaygın patojenik türleri; *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* ve *Arcobacter skirrowii*'dir (Çelik ve Otlu, 2020; Jiménez-Guerra ve ark., 2020). *A. butzleri*, *Arcobacter* genusunun en yaygın türü olup, zoonoz bir enteropatojenik bakteri olarak kabul edilmektedir (Uljanovas ve ark., 2023). *A. butzleri*'nin genellikle kontamine

gıda tüketiminden kaynaklanan ve yaygın bir hastalık olan "gezgin hastalığı" ndan izole edildiği bildirilmiştir (Goni ve ark., 2016).

A. butzleri ve *A. cryaerophilus*, 2002'den beri Uluslararası Gıda Mikrobiyolojik Spesifikasyon Komisyonu tarafından "insan sağlığı için ciddi tehlike" olarak sınıflandırılmıştır ve insan sağlığı için yükselen bir risk olduğu belirtilmiştir. (Brückner ve ark., 2020; Abay ve ark., 2022; Gabucci ve ark., 2023).

Kedi ve köpeklerden alınan oral smearlarda *Arcobacter* türlerinin tespit edilmesi, evcil hayvanlar ve sahipleri arasındaki olası fiziksel temastan dolayı bu hayvanların insanlar için *Arcobacter* enfeksiyonu açısından potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olduğunu göstermektedir (Pejchalova ve ark., 2016).

Köpek ve kedi gibi pet hayvanlarının sindirim sistemlerinde *Arcobacter* türlerini barındırdıkları rapor edilmiştir (Kayman ve ark., 2012). *Arcobacter* türleri, klinik olarak evcil hayvanlarda abort, enterit ve mastit; insanlarda ise gastroenterit, bakteriyemi, endokardit, peritonit, ishal ve septisemi gibi enfeksiyonlara yol açmaktadır (Çelik ve ark., 2020).

İnsanlarda *Arcobacter butzleri*'nin, akut veya uzun süreli ishal (iki haftadan iki aya kadar süren), karın ağrısı, mide bulantısı, kusma ve bazı durumlarda bakteriyemi, peritonit ve endokardit enfeksiyonlarının ajanı olduğu belirtilmektedir (Uljanovas ve ark., 2023).

Campylobacter genusuna ait mikroorganizmalar zoonotik patojendirler ve en yaygın bulaş kaynağı olarak kümes hayvanları gösterilmektedir (Ansarifar ve ark., 2023). Bu bakterinin insanlara bulaşması temel olarak çiğ veya az pişmiş tavuk eti, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, su ve mutfakta yemek hazırlanırken çiğ tavukla kontamine olmuş diğer gıda ürünlerinin tüketilmesiyle gerçekleşmektedir (Kayman ve ark., 2019; Aydın ve ark., 2020). Marketlerde satışa sunulan süt, beyaz et ve kırmızı etten alınan numuneler incelendiğinde *Campylobacter* spp. prevalansının çiftliklerden alınan yine aynı örneklerdeki *Campylobacter* spp. prevalansından daha yüksek olduğu gösterilmektedir (Ansarifar ve ark., 2023; Soto-Beltrán ve ark., 2023).

Campylobacter türleri, gelişmekte olan ve sanayileşmiş ülkelerde yaygın bakteriyel gastroenteritin önemli bir nedeni olarak gösterilmektedir (Soto-Beltrán ve ark.,

2023). *Campylobacter* türlerinin sağlıklı hayvanlardan sıklıkla izole edilmesi bu etkenlerin evcil ve yabani hayvanların normal mikrobiyotasında bulunduğunu düşündürmektedir (Rukambile ve ark., 2019). Gıda ve içme suyu dışında, evcil hayvanlarla yakın temas, özellikle çocuklar için kampilobakter açısından infeksiyon kaynağı olabilir. Bazı çalışmalar, insanlardaki enterik kampilobakteriyozunun %6'sının evcil hayvanlardan kaynaklandığını göstermiştir (Houf ve ark., 2008).

Campylobacter infeksiyonu insanlarda, ekstraintestinal komplikasyonlardan Guillain Barré sendromu, reaktif artrit ve irritabl bağırsak sendromuna yol açabilmektedir (Zhang ve ark., 2020; Mulder ve ark., 2020).

Campylobacter jejuni ve *Campylobacter coli* insan kampilobakteriyoz vakalarının %90'ından fazlasını oluşturan iki önemli türdür (Mulder ve ark., 2020). İnsan kampilobakteriyozunun başlıca belirtileri kanlı ishal, karın ağrısı ve ateş olarak gösterilmektedir. *Campylobacter* infeksiyonlarının uzun süreli komplikasyonları arasında, periferik nöropatiler, otoimmün infeksiyonlar, reaktif artrit ve Miller Fisher sendromu, inflamatuvar barsak hastalığı, özofagus hastalıkları, periodontitis, çölyak hastalığı, kolesistit ve kolon kanseri sayılabilir. Özellikle *C. jejuni*'nin insanlarda neden olduğu infeksiyonlar nörolojik hasarların en yaygın nedeni olarak gösterilmekte olup, dünya çapında bakteriyel gastroenteritin ana etkenlerinden biri olarak tanımlanmaktadır (Ansarifar ve ark., 2023).

Campylobacter upsaliensis ise gastroenterit vakalarının küçük bir kısmından izole edilmiştir (Mohan ve ark., 2017). *C. jejuni* ve *C. coli* evcil ve çiftlik hayvanlarının intestinal sisteminde kommensal olarak çok sayıda (10^7 koloni oluşturan birim [CFU]'e kadar) bulunabilmektedir (Ağn ve Özgür, 2012).

Çeşitli hayvan ve çevre rezervuarlarındaki yaygınlık üzerine yapılan araştırmalar, *Campylobacter* genusuna ait türleri kategorize etmek için kullanılmıştır. Bu zoonotik türler kommensal mikroorganizmalardır ve memelilerin, kuşların ve sürüngenlerin bağırsaklarında bulunmaktadırlar. Ayrıca içme suyu gibi diğer çevresel kaynaklar da kampilobakterileri barındırabilmektedir (Soto-Beltrán ve ark., 2023).

Bunun yanısıra insanlara bulaşma, infekte hayvanlarla veya infekte hayvanların dışkılarıyla kontamine olmuş bir ortamla direkt temas yoluyla da gerçekleşebilir (Abay ve ark., 2022; Ansarifar ve ark., 2023). *Campylobacter rectus*, sağlıklı veya ishalleri

köpeklerin dışkı örneklerinde tespit edilmiş olup bu bakterinin insanlara bulaşması fekal-oral yolla gerçekleşmektedir (Kakuta ve ark., 2016). Köpeklerin, insanlarda sporadik seyreden *Campylobacter* infeksiyonlarının bilinen bir kaynağı olduğu bildirilmektedir (Bobade ve ark., 2020). Köpek ve kedi dışkısının %20.4 oranında *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu belirtilmektedir (Ansarifar ve ark., 2023).

Helicobacter genusunun epidemiyolojisi ve potansiyel zoonotik öneminden dolayı bu konuda yapılan araştırmalar hem insanlar hem de hayvanlar için değerli kabul edilmektedir (Elyasi ve ark., 2020). *Helicobacter* genusu, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemindeki en önemli bakteri olarak görülmektedir (Elyasi ve ark., 2020; Fox, 2012). 2015 yılında dünya çapında yaklaşık 4,4 milyar *H. pylori* pozitif birey ile dünya nüfusunun yarısından fazlasının infekte olduğu tahmin edilmektedir. Coğrafyalar arasında geniş bir değişkenlik gösteren *H. pylori* infeksiyonu yetişkin erkeklerde ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek oranda görülmektedir (Fiorani ve ark., 2023).

İnsanlarda en sık görülen infeksiyon *Helicobacter pylori*'den kaynaklanmakla birlikte, diğer Gastrik *Helicobacter* türleri de (*Helicobacter felis*, *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter bizzozeronii*) benzer şekilde mide hastalıklarına yol açabilmektedir. Yaygın olarak görülen *H. heilmannii* kedi ve köpeklerin midesinde kolonize olup, zoonotik özelliğe sahiptir (Tarhane ve Otlu, 2019). *H. pylori* kronik aktif gastrit, peptik ve duodenal ülserler, mide adenokarsinomu ve mide mukozası ile ilişkili lenfoid doku lenfomalarının (MALT) patogeneğinde rol oynamaktadır (Jankowski ve ark., 2016). *H. pylori*'nin yüksek prevalansı, birçok mide ve mide dışı infeksiyonlar ile ilişkilendirildiğinden, insan sağlığı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (Fiorani ve ark., 2023).

H. pylori'nin insanlarda keşfedilmesinin ardından, köpekler, kediler, fareler, domuzlar, sığırlar ve koyunlar gibi çeşitli beslenme alışkanlıklarına sahip olan hem vahşi hem de evcil memelilerde *Helicobacter* türleri rapor edilmiştir (Youssef ve ark., 2020).

H. heilmannii, *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *Helicobacter salomonis*, *Helicobacter bilis* ve *Helicobacter cyanogastricus* dahil olmak üzere farklı *Helicobacter* türleri köpeklerin gastrointestinal sisteminde tespit edilmiştir (Nowroozilarki ve ark., 2017).

Arcobacter, *Campylobacter* ve *Helicobacter* genusunda yer alan önemli türler, insanlarda bakteriyel gastroenteritislerin nedenleri arasında yer almaktadır (Goni ve ark., 2017; Nowroozilarki ve ark., 2017; Houf ve ark., 2008). Çeşitli araştırmalarda, bakteriyel gastroenteritin kaynaklarından biri olarak evcil hayvanlar gösterilmiştir. Anılan üç bakterinin epidemiyolojisini ortaya koymak amacıyla çeşitli kaynaklardan izolasyonuna yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır (Aydın ve ark., 2007; Aydın ve ark., 2020).

İnsanların son yıllarda evcil hayvan edinme alışkanlıkları ve bunun sonucunda aynı yaşam alanını paylaşmaları ve fiziksel temasları sonucu çeşitli bakterilerle olası kontaminasyonları insan sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu kapsamda köpek ağız mikrobiyotasında *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin varlığına ilişkin yapılan çalışmalar ve elde edilen bilgiler sınırlıdır.

Bu çalışma ile *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasından izolasyon ve identifikasyonu yapılarak, sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasında bu bakteriyel etkenlerin taşıyıcılığı hakkında önemli bilgiler elde edildi. Elde edilen bu bilgiler ışığında bu bakterilerin insan sağlığı açısından oluşturabileceği risk faktörü de ortaya konuldu.

Son yıllarda, insanların evcil hayvan edinme alışkanlıkları artmaktadır. Ortak yaşam alanında barındırılan bu hayvanlarla olası fiziksel temas sonucu çeşitli bakteriler insanlara bulaşabilmektedir. Bu bakteriyel etkenler arasında *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* türleri de yer almaktadır. Yurdumuzda, *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin çeşitli kaynaklardan izolasyon ve identifikasyonuna yönelik çalışmalar bulunmasına karşın, sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasının bu etkenlerin epidemiyolojisindeki rolü bilinmemekte olup, bu tez çalışması ile *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin epidemiyolojisinde sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasının rolünün ortaya konmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasında bu üç bakterinin varlığı hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı için önem arz etmektedir. Bu sebeple çalışmada elde edilen bilgilerin bilimsel bilgi birikimine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında, sahipsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasında *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter*'in Tarihçesi

Arcobacter türleri, ilk olarak, Ellis ve ark. tarafından, 1977 yılında aborte sığır fetusundan ve 1978 yılında aborte domuz fetusundan izole edilmiştir (Fera ve ark., 2009). Ellis ve ark. tarafından plasenta ve aborte sığır fetusunun iç organlarından “Spirillum/Vibrio-benzeri organizmalar” izolasyonu olarak tanımlanmıştır. İzole edilen bu mikroorganizma başlangıçta *Vibrio* genusuna atanmıştı, ancak karbonhidratları fermente etmedeki başarısızlıkları göz önüne alındığında, daha sonra atipik ve heterojen bir aerotolerant kampilobakter grubu olarak *Campylobacter* genusuna aktarıldılar (Blasio ve ark., 2019). İki yıl sonra Neill ve ark. (1985), esas olarak hayvan düşüklerinden izole edilen bir grup aerotolerant suşu tanımladı ve *Campylobacter cryaerophila* adında yeni bir *Campylobacter* türü önerdi (Ferreira ve ark., 2015).

Arcobacter genusu, Vandamme ve ark. (1991) tarafından ilk olarak 'aerotolerant kampilobakteriler' olarak adlandırılan bakterileri içermesi önerildi. Bunun nedeni, arkobakterin mikroaerobik veya aerobik olarak büyüeyebilen aero-toleranslı *Campylobacter* benzeri Gram negatif spiral şekilli organizmalar olmasıdır (Snelling ve ark., 2005). Başlangıçta 'aerotolerant kampilobakter' olarak adlandırılan *Arcobacter*, fenotipik ve morfolojik olarak *Campylobacter* ile benzer olmalarına rağmen, aerobik koşullar altında ve düşük sıcaklıklarda (15–25 °C) üreme yeteneği ile kampilobakterlerden ayrılmıştır (Snelling ve ark., 2006; Goni ve ark., 2016).

1991 yılında, Vandamme ve ark., atipik *Campylobacter* türleri olan, *C. nitrofigilis* ve *C. cryaerophila*'yı *Arcobacter* genusunun içerisine alarak sırasıyla

Arcobacter nitrofigilis ve *Arcobacter cryaerophilus* olarak adlandırılmalarını önermişlerdir (Blasio ve ark., 2019).

1992'de, *Arcobacter* genusu, *A. butzleri*'yi ve yeni bir tür olan *A. skirrowii*'yi içerecek şekilde genişletilmiş ve ağırlıklı olarak boğaların prepusyal sıvılarından veya sığır, domuz ve küçükbaş hayvan aborte fetüslerinden ve ayrıca ishalleri dışkılarından izole edilmiştir (Ferreira ve ark., 2015).

Campylobacter'in bilinen ilk tanımı 1886 yılında, Theodore Escherich tarafından yapılan çalışmalara dayanmaktadır. "Cholera infantum" adı verilen enterik hastalıktan hayatını kaybeden çocukların kolonunda bulunan spiral bakteri olarak tanımlanmış, fakat kültürü yapılamamıştır (Butzler, 2004; Snelling ve ark., 2005; Epps ve ark., 2013). 1909'da iki İngiliz Veteriner Hekim John McFadyean ve Stewart Stockman tarafından, koyunlarda enzootik abortusu araştırdı ve aborte fetüslardan vibrio benzeri mikroorganizma izole ettiklerini bildirmişlerdir (Butzler, 2004). 1919 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Theobald Smith ve Marian Taylor tarafından abort yapan sığırlardan bir organizma izole edilmiş ve '*Vibrio fetus*' olarak adlandırılmıştır (Butzler, 2004; Skirrow, 2006). 1927'de Theobald Smith ve Marion Orcutt tarafından ishalleri dışkılarından bir grup vibrio benzeri bakteri bulundu. 1931'de Jones ve ark., mikroaerofilik vibriolar ile sığır dizanterisi arasında bir ilişki olduğunu göstermişler ve organizma sonunda '*Vibrio jejuni*' olarak adlandırmışlardır. (Epps ve ark., 2013; Nand 2018). İshalleri domuz dışkılarından, 1944 yılında, farklı bir tür tespit edilmiş ve '*Vibrio coli*' olarak adlandırılmıştır (Epps ve ark., 2013; Nand 2018).

Campylobacter genusuna ait türler spiral morfolojilerinden dolayı *Vibrio* genusu içinde yer almıştır. 1963 yılında Sebald ve Véron tarafından oksijenli ortamda ürememeleri, karbonhidratları fermente edememeleri ve DNA baz yapısındaki guanin + sitozin (G+C) oranlarının farklılıklarından dolayı *Campylobacter* olarak isimlendirilmiştir (Walker ve ark., 1986; Epps ve ark., 2013; Yağız 2017). 1973 yılında Veron ve Chatelain tarafından Vibrio-benzeri organizmaların taksonomisi hakkında yapılan çalışma sonucunda; *Vibrio fetus*, *Vibrio coli*, *Vibrio jejuni* *Campylobacter* genusuna geçerek sırasıyla *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni* olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca *Campylobacter sputorum* ve bu türe ait 2 alt tür olan,

bronşitli bir hastanın balgamından izole edilen *C. sputorum subsp. sputorum* ve sığır vajina ve sperminden izole edilen *Campylobacter sputorum subsp. bubulus* olarak isimlendirilmiştir (Ngulukun, 2017).

Helicobacter heilmannii 1893 yılında Gulio Bizzozero tarafından, köpek mide mukozasında spiral şekilli mikroorganizma gözlemlemiş, 1896 yılında ise Salomon kedi ve sıçanların mide mukozasında benzer morfolojiye sahip mikroorganizma tespit etmiştir (Meining ve ark., 1998).

Helicobacter pylori ilk kez 1982'de Marshall ve Warren tarafından bir insan mide biyopsisinden izole edilmiştir (Taillieu ve ark., 2022). Başlangıçta *Campylobacter* genusu içine sokularak, "*Campylobacter pyloridis*" adı verilmiş ve daha sonra "*Campylobacter pylori*" olarak değiştirilmiştir (Kusters ve ark., 2006). Ancak 1985'te bu mikroorganizmanın bazı morfolojik ve fenotipik özelliklerinin diğer tüm *Campylobacter*'lerden farklı olduğunu bildirilmiştir (Goodwin ve ark., 1989). Bu farklılıklar değerlendirildiğinde etken *Helicobacter* genusu içinde tanımlanmış ve *Helicobacter pylori* olarak adlandırılmıştır (Kusters ve ark., 2006).

H. heilmannii, tirbuşon benzeri bir görünüme sahiptir ve *H. pylori*'den iki ila üç kat daha uzundur. Bu morfolojik özellikleri sayesinde mide biyopsi örneklerinde kolaylıkla saptanabilir ve *H. pylori*'den ayırt edilebilir. Bu arada *H. heilmannii* de kültüre alınmıştır (Meining ve ark., 1998).

1900 yılında, gastrik *Helicobacter pylori* olmayan *Helicobacter* (NHPH) ilk olarak *Gastrospirillum hominis* olarak rapor edildi ve daha sonra *H. pylori*'den daha büyük boyuta sahip olan ve her iki tarafında fagella bulunan *H. heilmannii* olarak yeniden adlandırılmıştır (Yasuda ve ark., 2022).

Gastritisli insan midelerinde, düşük bir prevalans gösteren başka gastrik *Helicobacter* türleri de tanımlanmıştır. NHPH türleri; çiftlik hayvanları ve evcil hayvanların midelerinde yaşadığı bildirilmiş ve mide biyopsilerinin %0.2-6'sında bulunmaktadır (Taillieu ve ark., 2022; Yasuda ve ark., 2022). NHPH türlerinin, MALT lenfoma, nodüler gastrit ve kronik gastrit oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Yasuda ve ark., 2022).

Helicobacter genusu içerisindeki türler gastrik, intestinal ve hepatik dağılım göstermektedir. Gastrik *Helicobacter* türleri; köpeklerde *H. felis*, *H. bizzozeronii*,

H. salomonis, “*H. heilmannii*,” “*Flexispira rappini*”, kedilerde *H. bilis* ve insanlarda *H. pylori* olarak gözlemlenmektedir. İntestinal *Helicobacter* türleri; köpeklerde ve kedilerde ve *H. hepaticus*, *H. bilis*, *H. rodentium*, *H. muridarum*, insanlarda *H. fennelliae*, *H. cinaedi*, *H. canis* ve “*F. rappini*” ve farelerde “*F. rappini*” olarak gözlemlenmiştir. Hepatik *Helicobacter* türleri ise, köpeklerde *H. canis*, farelerde *H. hepaticus* ve *H. bilis*, insanlarda *H. pylori* olarak gözlemlenmektedir (Moussa ve ark., 2021).

2.2. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* Genuslarının Taksonomisi

Arcobacter genusunun taksonomisi 16S ribozomal Ribonükleik Asit (rRNA) gen dizilerinin karşılaştırması esasına dayanmaktadır (Collado ve Figueras, 2011).

Arcobacter genusu, *Proteobacteria*'nın *Epsilon* bölümündeki rRNA süper familyası VI'nın üyesidir (Çelik ve Otlu, 2020). 2018 yılında, Pérez-Cataluña ve ark. tarafından, *Arcobacter* genusunun taksonomisi filogenetik ve genomik analizler kullanılarak, mevcut *Arcobacter* genusu yeniden değerlendirip yedi farklı genusa ayırmayı önermişlerdir (Zhou ve ark.,2022).

Arcobacteraceae familyası içerisinde, günümüzde 7 genus (*Arcobacter*, ‘*Aliarcobacter*’, *Aliarcobacter*, *Halarcobacter*, *Haloarcobacter*, *Pseudarcobacter*, *Pseudoarcobacter*) yer almaktadır (LPSN 1, 2023).

Arcobacter genusu günümüzde toplam 34 türden oluşmaktadır. 1991’de *Arcobacter cryaerophilus* ve *Arcobacter nitrofigilis*, 1992’de *Arcobacter butzleri* ve *Arcobacter skirrowii*, 2005’de *Arcobacter cibarius* ve *Arcobacter halophilus*, 2009’da *Arcobacter mytili* ve *Arcobacter thereius*, 2010’da *Arcobacter marinus*, 2011’de *Arcobacter defluvii*, *Arcobacter ellisii*, *Arcobacter molluscorum* ve *Arcobacter trophiarum*, 2012’de *Arcobacter bivalviorum* ve *Arcobacter venerupis*, 2013’de *Arcobacter anaerophilus*, *Arcobacter cloacae* ve *Arcobacter suis*, 2015’de *Arcobacter aquimarinus*, *Arcobacter ebronensis* ve *Arcobacter lanthieri*, 2016’da *Arcobacter pacificus*, 2017’de *Arcobacter lekithochrous*, 2018’de *Arcobacter canalis*, 2019’da *Arcobacter acticola*, *Arcobacter antarcticus*, *Arcobacter caeni*, *Arcobacter faecis* ve *Arcobacter lacus*, 2021’de *Arcobacter arenosus*, *Arcobacter parvus*, *Arcobacter vandammei* ve *Arcobacter vitoriensis*, 2023’de *Arcobacter roscoffensis* türleri bu genusa dahil edilmiştir (LPSN 2, 2023). *Arcobacter* türleri ve

izole edildiği kaynaklar Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. *Arcobacter* Türleri ve İzole Edildiği Kaynaklar (Pérez-Cataluña ve ark., 2018)

<i>Arcobacter</i> Türleri	İzole Edildiği Kaynaklar
<i>A. acticola</i>	Deniz suyu
<i>A. anaerophilus</i>	Nehir suyu tortusu
<i>A. aquimarinus</i>	Akdeniz
<i>A. bivalviorum</i>	Midye
<i>A. butzleri</i>	İnsan
<i>A. canalis</i>	İstiridye
<i>A. cibarius</i>	Broyler derisi
<i>A. cloacae</i>	Kanalizasyon ve midye
<i>A. cryaerophilus</i>	Aborte sığır fetusu
<i>A. defluvii</i>	Kanalizasyon
<i>A. ebronensis</i>	Midye
<i>A. ellisii</i>	Midye
<i>A. faecis</i>	İnsan
<i>A. halophilus</i>	Hipersalin lagün
<i>A. lanthieri</i>	Domuz ve sığır gübresi
<i>A. lekithochrous</i>	Deniz tarağı larvası
<i>A. marinus</i>	Deniz suyu
<i>A. molluscorum</i>	Midye
<i>A. mytili</i>	Midye, deniz suyu
<i>A. nitrofigilis</i>	Bataklık bitkisi
<i>A. pacificus</i>	Deniz suyu
<i>A. skirrowii</i>	Yaban domuzu ve ishali kuzu
<i>A. suis</i>	Domuz eti
<i>A. thereius</i>	Aborte domuz fetüsü, ördek kloakal svab
<i>A. trophiarum</i>	Domuz dışkısı, tavuk kloakal svabı
<i>A. venerupis</i>	İstiridye
<i>A. aquaticus</i>	Tatlı su
<i>A. caeni</i>	Geri dönüştürülmüş atık su
<i>A. hispanicus</i>	Atık su
<i>A. lacus</i>	Geri dönüştürülmüş atık su
<i>A. mediterraneus</i>	Midye
<i>A. miroungae</i>	Deniz fili
<i>A. neptunis</i>	Midye
<i>A. salis</i>	İstiridye
<i>A. viscosus</i>	Midye
<i>A. vitoriensis</i>	Atık su

Campylobacter genusu, *Campylobacteraceae* ailesine, *Campylobacterales* takımına, *Campylobacteria* sınıfına ve *Campylobacterota* bölümüne aittir (Branysova ve ark., 2023). Günümüzde *Campylobacter* genusu, 44 tür ve 16 alt türden oluşmaktadır. 1980’de *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter sputorum*, 1981’de *Campylobacter concisus*, 1984’de *Campylobacter lari*, 1985’de *Campylobacter hyointestinalis* ve *Campylobacter mucosalis*, 1991’de *Campylobacter cuniculorum*, *Campylobacter rectus* ve *Campylobacter upsaliensis*, 1993’de *Campylobacter helveticus* ve *Campylobacter showae*, 1995’de *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter hyoilei* ve *Campylobacter pylori*, 2000’de *Campylobacter lanienae*, 2001’de *Campylobacter hominis*, 2004’de *Campylobacter insulaenigrae*, 2007’de *Campylobacter canadensis*, 2009’da *Campylobacter avium* ve *Campylobacter cuniculorum*, 2010’da *Campylobacter subantarcticus*, *Campylobacter ureolyticus* ve *Campylobacter volucris*, 2014’de *Campylobacter corcagiensis*, 2015’de *Campylobacter iguaniorum*, 2016’da *Campylobacter geochelonis* ve *Campylobacter hepaticus*, 2017’de *Campylobacter ornithocola*, 2018’de *Campylobacter blaseri*, 2019’da *Campylobacter armoricus*, 2020’de *Campylobacter novaezeelandiae*, 2021’de *Campylobacter aviculae*, *Campylobacter estrildidarum*, *Campylobacter massiliensis*, *Campylobacter portucalensis*, *Campylobacter taeniopygiae* ve *Campylobacter vulpis*, 2022’de *Campylobacter anaticus*, *Campylobacter bilis*, *Campylobacter majalis* ve *Campylobacter suis*, 2023’de *Campylobacter troglodytis* türleri bu genusa dahil edilmiştir (LPSN 3, 2023). *Campylobacter* türleri ve bulunduğu konaklar Tablo 2.2.’de verilmiştir.

Tablo2.2. *Campylobacter* Türleri ve Bulunduğu Konaklar (Ngulukun, 2017)

Tür	Konakçı
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Sığır, koyun
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	Sığır, koyun
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	Kanatlı, sığır, insan
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	İnsan
<i>C. coli</i>	Domuz
<i>C. concisus</i>	İnsan
<i>C. curvus</i>	İnsan
<i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i>	Domuz, sığır, insan
<i>C. hyointestinalis subsp. lawsonii</i>	Domuz
<i>C. lari subsp. lari</i>	Martı, köpek, kabuklu deniz hayvanları
<i>C. lari subsp. concheus</i>	İnsan, kabuklu deniz hayvanları
<i>C. rectus</i>	İnsan
<i>C. upsaliensis</i>	Kedi, köpek, maymun
<i>C. helveticus</i>	Kedi, köpek
<i>C. gracilis</i>	İnsan
<i>C. showae</i>	İnsan
<i>C. sputorum</i>	Sığır, domuz, insan
<i>C. lanienae</i>	Domuz
<i>C. hominis</i>	İnsan
<i>C. mucosalis</i>	Domuz
<i>C. insulaenigrae</i>	Fok, yunus
<i>C. canadensis</i>	Yabani kuşlar
<i>C. cuniculorum</i>	Tavşan
<i>C. peloridis</i>	İnsan, yumuşakçalar
<i>C. avium</i>	Kanatlı
<i>C. ureolyticus</i>	İnsan
<i>C. volucris</i>	Yabani kuşlar, insan
<i>C. subantarcticus</i>	Yabani kuşlar
<i>C. troglodytis</i>	Şempanze
<i>C. corcagiensis</i>	Aslan kuyruklu makak maymunu
<i>C. iquaniorum</i>	Kertenkele, kaplumbağa

Helicobacter genusu, *Proteobacteria*'nın *Epsilon* alt bölümünün *Campylobacterales* takımındaki *Helicobacteraceae* familyasına aittir (Ochoa ve Collado, 2021). Günümüzde *Helicobacter* genusu 53 tür içermektedir. 1985'de *Helicobacter heilmanii*, 1989'da *Helicobacter mustelae* ve *Helicobacter pylori*, 1991'de *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter felis* ve *Helicobacter fennelliae*, 1992'de *Helicobacter muridarum*, 1993'de *Helicobacter acinonychis*, 1994'de *Helicobacter canis*, *Helicobacter hepaticus* ve *Helicobacter pametensis*, 1995'de *Helicobacter pullorum*, 1996'da *Helicobacter bizzozeronii* ve *Helicobacter troglodytis*, 1997'de

Helicobacter bilis, *Helicobacter cholecystus*, *Helicobacter rodentium* ve *Helicobacter salomonis*, 2000'de *Helicobacter mesocricetorum*, 2001'de *Helicobacter ganmani*, 2002'de *Helicobacter aurati*, *Helicobacter typhlonius* ve *Helicobacter canadensis*, 2006'da *Helicobacter anseris*, *Helicobacter brantae*, *Helicobacter cetorum*, *Helicobacter cynogastricus*, *Helicobacter marmotae* ve *Helicobacter mastomyrinus*, 2007'de *Helicobacter equorum*, 2008'de *Helicobacter baculiformis* ve *Helicobacter suis*, 2012'de *Helicobacter heilmannii*, 2013'de *Helicobacter macacae*, 2014'de *Helicobacter valdiviensis*, 2015'de *Helicobacter himalayensis*, 2016'da *Helicobacter apri* ve *Helicobacter canicola*, 2017'de *Helicobacter ailurogastricus*, *Helicobacter jaachi* ve *Helicobacter saguini*, 2020'de *Helicobacter didelphidarum*, *Helicobacter enhydrae*, *Helicobacter labacensis*, *Helicobacter mehlei*, *Helicobacter monodelphidis* ve *Helicobacter vulpis*, 2021'de *Helicobacter delphinicola*, 2022'de *Helicobacter colisuis*, *Helicobacter kayseriensis* ve *Helicobacter turcicus*, 2023'de *Helicobacter anatolicus* ve *Helicobacter kumamotonensis* türleri bu genusa dahil edilmiştir (LPSN 4, 2023). *Helicobacter* türleri ve izole edildiği örnekler Tablo 2.3.'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Helicobacter Türleri ve İzole Edildiği Örnekler (Ochoa ve Collado, 2021)

Tür	İzole edildiği örnekler
Gastrik Helicobacter Türleri	
<i>H. pylori</i>	İnsan duodenal biyopsisi
<i>H. felis</i>	Kedi gastrik mukozası
<i>H. acinonychis</i>	Çıta mide biyopsisi
<i>H. bizzozeronii</i>	Köpek gastrik mukozası
<i>H. salomonis</i>	Hamster dışkısı
<i>H. cetorum</i>	Deniz memelileri mide içeriği ve dışkısı
<i>H. cynogastricus</i>	Köpek gastrik biyopsisi
<i>H. baculiformis</i>	Kedi gastrik mukozası
<i>H. suis</i>	Domuz gastrik mukozası
<i>H. heilmannii</i>	Kedi gastrik mukozası
<i>H. ailurogastricus</i>	Kedi gastrik mukozası
<i>H. enhydrae</i>	Güney su samurları yangılı mide dokusu
<i>H. labacensis</i>	Kızıl tilki mide mukozası
<i>H. mehlei</i>	Kızıl tilki mide mukozası
<i>H. vulpis</i>	Kızıl tilki mide mukozası
Enterohepatik Helicobacter Türleri	
<i>H. cinaedi</i>	İnsan kan ve dışkısı
<i>H. fennelliae</i>	İnsan kan ve dışkısı
<i>H. mustelae</i>	Gelincik mide mukozası
<i>H. muridarum</i>	Fare bağırsak mukozası
<i>H. canis</i>	Köpek dışkısı
<i>H. hepaticus</i>	Fare kolon, sekum ve karaciğeri
<i>H. pametensis</i>	Yabani kuş ve domuz dışkısı
<i>H. pullorum</i>	İnsan, broyler gastrointestinal örnekleri
<i>H. bilis</i>	Fare kolon, sekum, safra ve karaciğeri
<i>H. trogontum</i>	Fare kolon mukozası
<i>H. cholecystus</i>	Hamster safra kesesi
<i>H. rodentium</i>	Fare kolon, sekum ve dışkısı
<i>H. mesocricetorum</i>	Hamster dışkısı
<i>H. canadensis</i>	İnsan dışkısı
<i>H. aurati</i>	Hamster mide ve sekumu
<i>H. ganmani</i>	Fare bağırsak ve karaciğeri
<i>H. typhlonius</i>	Rodent dışkısı
<i>H. marmotae</i>	Dağ faresi karaciğer ve dışkısı
<i>H. mastomyrinus</i>	Rodent karaciğer ve dışkısı
<i>H. anseris</i>	Kanada kazı dışkısı
<i>H. equorum</i>	At dışkısı
<i>H. macacae</i>	Rhesus maymunu dışkısı
<i>H. valdiviensis</i>	Yabani kuş dışkısı
<i>H. himalayensis</i>	Marmoset mide mukozası
<i>H. jaachi</i>	Marmoset karaciğer, safra ve dışkısı
<i>H. canicola</i>	Köpek dışkısı
<i>H. japonicus</i>	Fare mide, bağırsak dokusu ve dışkısı
<i>H. saguini</i>	Tamarin bağırsak ve dışkısı
<i>H. apri</i>	Domuz sekum içeriği ve mide mukozası
<i>H. monodelphides</i>	Keseli sıçan kolon, sekum ve dışkısı
<i>H. didelphidarum</i>	Keseli sıçan kolon, sekum ve dışkısı

2.3. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* Genuslarının Karakteristik Özellikleri

2.3.1. Morfolojik ve Kültür Özellikleri

Arcobacter (arcus: yay-kavis; bacter: çomak) türleri, Gram negatif, hareketli, sporsuz, 'S' şeklinde, kavisli çomak formunda mikroorganizmalardır. Yaklaşık olarak 0,2-0,9 µm eninde ve 0,5-3 µm uzunluğunda bir boyuta sahiptirler (Lameei ve ark., 2022; Kayman, 2012). *Arcobacter* türleri, tek bir polar kılıfsız flagellaya sahiptirler (Ferraira ve ark., 2015; Kayman, 2012). *Arcobacter* türleri, 15°C - 37°C sıcaklık aralığında, mikroaerobik ve aerobik ortamda üreyebilirler (Abay ve ark., 2011). *Arcobacter anaerophilus*, flagellası olmayan ve zorunlu anaerob bir *Arcobacter* türüdür (Ferraira ve ark., 2015). *Arcobacter skirrowii*, 48 saatlik inkubasyon periyodu sonunda yarı saydam, bej renğinde ve dışbükey koloniler oluşturur (Nguyen ve ark., 2023).

Campylobacter türleri, Gram negatif, hareketli, sporsuz, spiral, çomak formunda mikroorganizmalardır. Yaklaşık olarak 0,2-0,9 µm eninde ve 0,5-5 µm uzunluğunda bir boyuta sahiptirler. *Campylobacter* türleri, bir veya iki uçta polar kılıfsız flagellaya sahiptirler ve tirbişon benzeri hareket ederler (Snelling ve ark.,2005; Epss ve ark.,2013). *Campylobacter* türleri içerisinde hareketsiz olan tek tür *Campylobacter gracilis* ve birden fazla flagellası olan tür ise *Campylobacter showae*'dir (Nand, 2018). *Campylobacter* türleri genellikle mikroaerobik ortamda (%2-10 CO₂, %3-15 O₂) üreyebilirler (Snelling ve ark., 2005).

Helicobacter pylori, Gram negatif, hareketli, sporsuz, spiral şekilli mikroorganizmalardır. (Tarhane ve Otlu, 2019). Yaklaşık olarak 0,5-1 µm eninde ve 2-4 µm uzunluğunda bir boyuta sahiptir. *H. pylori*, uygun olmayan in vitro koşullarda kokoid şekle dönüşebilmektedir. *H. pylori* 3 µm uzunluğunda bipolar konumlu 2-6 adet kılıflı flagellaya sahiptir. Gastrointestinal sistemin diğer birçok patojeninin aksine, fimbrial adezinlerden yoksundur (Kusters ve ark., 2006). *H. pylori*, 37°C'de mikroaerobik ortamda üremektedir (Tarhane ve Otlu, 2019).

2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri

Biyokimyasal testler, bakteri izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması ve doğrulanması için kullanılmaktadır (Sohail ve ark.,2023).

Arcobacter türlerinin çoğu, katalaz, üreaz ve nitrat indirgeme gibi biyokimyasal testlerde pozitif sonuç verirken, metil red testinde negatif sonuç vermektedir. *Arcobacter* türlerinin katı besiyerinde oluşturduğu koloniler pigmentlerden yoksundur, ayrıca bu türlerin çoğu oksidatif aktivite göstermektedir (Pungana ve ark., 2023; Binder ve ark., 2023). Bazı *Arcobacter* türlerinin biyokimyasal karakterleri Tablo 2.4.'de verilmiştir.

Arcobacter türleri, karbonhidratı fermente edemezken, indoksil asetatı hidrolize edebilmektedirler. Bu özellikleri ile *Campylobacter* türleri ile nispeten benzerlik göstermektedirler (Goni ve ark., 2017).

Campylobacter türlerinin çoğunda, katalaz testi pozitifken, oksidaz ve üreaz aktiviteleri negatiftir. *Campylobacter* türlerinin çoğu hippuratu hidrolize edemezler fakat indoksil asetatı hidrolize edebilirler. *C. avium*, *C. curvus*, *C. jejuni*, *C. hepaticus* ve *C. geochelonis* türleri hippuratu hidrolize edebilen *Campylobacter* türleridir (Wang ve ark.,2023). Bazı *Campylobacter* türlerinin biyokimyasal karakterleri Tablo 2.5.'de verilmiştir.

Helicobacter türleri, biyokimyasal testlerden katalaz, oksidaz, üreaz ve TSI sonucunda pozitif iken indol testinde negatif reaksiyon göstermektedirler. Ayrıca H₂S üretimi ve hippurat hidroliz testi açısından pozitif sonuç vermektedirler (Almashhadany ve ark.,2023). Bazı *Helicobacter* türlerinin biyokimyasal karakterleri Tablo 2.6.'da verilmiştir.

Tablo 2.4. Bazı *Arcobacter* Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri

	Üreaz	Katalaz	Esteraz	Hippurat Hidrolizi	Alkalın Fosfataz	Voges-Proskauer Testi	Nitrat İndirgeme
<i>A. acticola</i>	-	+	-	*	*	*	-
<i>A. anaerophilus</i>	-	-	*	*	*	*	+
<i>A. antarcticus</i>	-	*	*	*	*	*	*
<i>A. aquimarinus</i>	-	+	*	*	*	*	+
<i>A. arenosus</i>	-	-	*	*	*	*	-
<i>A. bivalviorum</i>	-	+	+	-	+	-	-
<i>A. butzleri</i>	-	+	+	-	+	-	+
<i>A. caeni</i>	-	+	*	*	*	*	+
<i>A. canalis</i>	-	+	*	*	*	*	-
<i>A. cibarius</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>A. cloacae</i>	-	+	*	*	*	*	+
<i>A. cryaerophilus</i>	-	+	+	-	+	-	+
<i>A. defluvii</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>A. ebronensis</i>	+	-	*	*	*	*	-
<i>A. ellisii</i>	-	+	+	+	-	-	+
<i>A. faecis</i>	-	+	+	-	-	+	+
<i>A. halophilus</i>	-	-	+	-	-	-	+
<i>A. lacus</i>	-	+	*	*	*	*	+
<i>A. lanthieri</i>	-	+	+	-	-	+	+
<i>A. lekinthochrous</i>	-	+	-	*	-	-	+
<i>A. marinus</i>	-	-	+	-	+	+	+
<i>A. molluscorum</i>	-	+	+	-	+	-	+
<i>A. mytili</i>	-	+	+	-	+	-	+
<i>A. nitrofigilis</i>	+	+	+	-	-	-	+
<i>A. pacificus</i>	-	+	-	*	-	*	+
<i>A. parvus</i>	*	*	-	+	+	*	+
<i>A. skirrowii</i>	-	+	+	-	-	-	+
<i>A. suis</i>	-	+	*	*	*	*	+
<i>A. thereius</i>	-	+	-	-	-	-	+
<i>A. trophiarum</i>	-	+	+	-	-	-	-
<i>A. vandammei</i>	-	+	*	*	*	*	-
<i>A. venerupis</i>	+	+	*	*	*	*	+
<i>A. vitoriensis</i>	*	+	+	*	-	+	+

+: pozitif, -: negatif, *:belirlenemedi (Shrestha ve ark., 2022).

Tablo 2.5. Bazı *Campylobacter* Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri

	Oksidaz	Katalaz	Alkalin Fosfataz	Üreaz	Nitrat İndirgeme	Hippurat Hidrolizi
<i>C. anatolicus</i>	+	-	+	-	-	-
<i>C. armoricus</i>	+	+	-	+	-	-
<i>C. avium</i>	+	+	-	-	+	+
<i>C. blaseri</i>	+	+	+	+	+	-
<i>C. canadensis</i>	+	V	-	V	V	-
<i>C. coli</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. concisus</i>	V	-	V	-	(-)	-
<i>C. corcagiensis</i>	+	+	+	+	(+)	-
<i>C. cuniculorum</i>	+	+	+	-	-	+
<i>C. curvus</i>	+	-	V	-	+	(-)
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. fetus subsp. testudinum</i>	+	+	ND	-	+	-
<i>C. fetus subsp. veneralis</i>	+	(+)	-	-	(+)	-
<i>C. geochelonis</i>	+	+	-	-	+	+
<i>C. gracilis</i>	-	(-)	-	-	(+)	-
<i>C. helveticus</i>	+	-	-	-	+	-
<i>C. hepaticus</i>	+	+	ND	-	V	(+)
<i>C. hominis</i>	+	-	-	-	-	-
<i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. hyointestinalis subsp. lawsonii</i>	+	+	+	-	+	-
<i>C. iguaniorum</i>	+	+	ND	-	+	-
<i>C. insulaenigrae</i>	+	+	ND	-	+	-
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	+	(+)	-	-	-	+
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	+	+	-	-	+	+
<i>C. lanienae</i>	+	+	+	-	+	-
<i>C. lari subsp. concheus</i>	+	+	ND	-	+	-
<i>C. lari subsp. lari</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. mucosalis</i>	+	-	(+)	-	(-)	-
<i>C. novaezeelandiae</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. ornithocola</i>	-	+	-	+	V	-
<i>C. peloridis</i>	+	+	ND	ND	ND	-
<i>C. pinnipediorum subsp. caledonicus</i>	+	-	ND	+	+	-
<i>C. pinnipediorum subsp. pinnipediorum</i>	+	+	ND	+	+	-

Tablo 2.5. Bazı *Campylobacter* Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri (devam)

<i>C. portucalensis</i>	+	-	ND	-	-	-
<i>C. rectus</i>	+	(-)	-	-	+	-
<i>C. showae</i>	V	+	-	-	+	-
<i>C. sputorum</i>	+	V	-	V	(+)	-
<i>C. subantarcticus</i>	+	+	ND	ND	ND	-
<i>C. upsaliensis</i>	+	-	-	-	+	-
<i>C. ureolyticus</i>	+	(-)	-	+	+	-
<i>C. volucris</i>	+	+	-	ND	+	-
<i>C. vulpis</i>	+	-	V	-	+	-

+: %90-100, (+): %75-89, V: %26-74, -: %0-10, (-): %11-25, ND: belirlenemedi (Aydın ve ark., 2021).

Tablo 2.6. Bazı *Helicobacter* Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri

	Oksidaz	Katalaz	Üreaz	Alkalin Fosfataz	Hippurat Hidrolizi	Nitrat İndirgeme
<i>H. anatolicus</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. kayseriensis</i>	+	+	-	+	-	-
<i>H. acinonychis</i>	+	+	+	+	-	-
<i>H. ailurogastricus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>H. anseris</i>	+	+	+	-	ND	-
<i>H. apri</i>	+	+	-	+	ND	+
<i>H. aurati</i>	+	+	+	-	ND	-
<i>H. baculiformis</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. bilis</i>	+	+	+	ND	-	+
<i>H. bizzozeronii</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. brantae</i>	+	+	-	-	ND	-
<i>H. canadensis</i>	+	+	-	-	ND	+
<i>H. canicola</i>	+	+	-	+	ND	-
<i>H. canis</i>	+	-	-	+	-	-
<i>H. cetorum</i>	+	+	+	-	-	-
<i>H. cholecystus</i>	+	+	-	+	ND	+
<i>H. cinadei</i>	+	(+)	-	(-)	-	+
<i>H. cynogastricus</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. delphinicola</i>	+	+	+	-	-	-
<i>H. didelphidarum</i>	+	+	+	V	ND	-
<i>H. enhydrae</i>	+	+	-	-	ND	-
<i>H. equorum</i>	+	+	-	+	-	+
<i>H. felis</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. fennelliae</i>	+	(+)	-	V	-	-

Tablo 2.6. Bazı *Helicobacter* Türlerinin Biyokimyasal Karakterleri (devam)

<i>H. ganmani</i>	+	(-)	-	-	-	+
<i>H. heilmannii</i>	+	+	+	-	+	+
<i>H. hepaticus</i>	+	+	+	ND	-	+
<i>H. himalayensis</i>	+	+	-	+	-	+
<i>H. jaaachi</i>	+	+	+	-	ND	-
<i>H. japonicus</i>	+	+	-	-	ND	-
<i>H. labacensis</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. macacae</i>	+	+	-	-	ND	-
<i>H. marmotae</i>	+	+	+	+	ND	-
<i>H. mastomyrinus</i>	+	+	+	-	ND	-
<i>H. mehlei</i>	+	+	+	-	-	-
<i>H. mesocricetorum</i>	ND	+	-	+	-	(+)
<i>H. monodelphidis</i>	+	+	-	+	ND	(-)
<i>H. muridarum</i>	+	+	+	+	-	-
<i>H. mustelae</i>	+	+	+	+	-	+
<i>H. pametensis</i>	+	+	-	+	-	+
<i>H. pullorum</i>	+	(+)	-	-	-	+
<i>H. pylori</i>	+	+	(+)	+	-	-
<i>H. rodentium</i>	+	+	-	-	-	+
<i>H. saguini</i>	+	+	-	-	ND	-
<i>H. salomonis</i>	+	+	+	V	-	-
<i>H. suis</i>	+	+	+	+	-	-
<i>H. trogontum</i>	+	+	+	(-)	-	+
<i>H. typhlonius</i>	+	+	-	-	-	+
<i>H. valdiviensis</i>	+	+	(+)	-	-	-
<i>H. vulpis</i>	+	+	+	+	-	+

+: %90-100, (+): %75-89, V: %26-74, -: %0-10, (-): %11-25, ND: belirlenemedi (Aydın ve ark., 2022).

2.3.3. Virulens Özellikleri

Günümüzde *Arcobacter* suşlarının virulans özellikleri ve patojenik mekanizmaları (adezyon, sitotoksisite, invazyon) ile ilgili bilgiler sınırlıdır. *Arcobacter* spp.'de bulunan önemli virulans genleri; *iroE*, *irgA*, *tlyA*, *pldA*, *mviN*, *hecB*, *hecA*, *ciaB*, *cj1349* ve *cadF*'dir (Ma ve ark.,2022; Jasim ve ark., 2020). *cadF* geni, fibronektin reseptörüne yapışmada rol oynayan integral membran proteinini kodlar. Ayrıca, *ciaB* geni invazyon antijenini kodlarken *tlyA* geni ise hemolizin A'yı kodlamaktadır (Jasim ve ark., 2020).

Arcobacter butzleri ve *C. jejuni* dış membran zarında PorA antijeni içermektedir. Bu

protein mikroorganizmanın virulansında ve adaptasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Isidro ve ark., 2020). *Arcobacter lanthieri* izolatında cdtABC kodlayan sitotoksin (CDT) genleri saptanmıştır (Brückner ve ark., 2020). *Arcobacter* türlerinin virulans faktörleri hücre invazyonu, immün yanıtların indüklenmesi ve toksin üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Binder ve ark., 2023). Yapılan bilimsel çalışmalarda, *A. butzleri*'nin adheziv, invaziv ve sitotoksik özelliklere sahip olduğunu, Caco-2 ve IPI-2I hücre hatlarında proinflamatuvar sitokin interlökin-8'in (IL-8) ekspresyonunu indükleyebildiğini göstermiştir (Uljanovas ve ark., 2023).

Campylobacter türleri; hareket, intestinal adezyon, kolonizasyon, toksin sentezi ve invazyon gibi çok sayıda virulans özelliklerine sahiptir. virB11, ciaB ve iam genleri ise bağırsak epitel hücrelerine adezyonu ve invazyonu desteklemektedir. *Campylobacter* türlerinin *cadF*, *docA* ve *racR* genleri tarafından kodlanan yüzey proteinleri, mikroorganizmanın mide ve bağırsak ortamında yaşayabilmesi için esastır (El-naenaey ve ark.,2022). Konak enterositleri için toksik olan cytolethal distending toksin (CDT); *CdtA*, *CdtB* ve *CdtC* olmak üzere üç alt birimden oluşmaktadır (Gharajalar ve ark.,2020).

Helicobacter türleri, lipopolisakarit (LPS), flagella, üreaz enzimi, peptidoglikan tabakası, dış membran proteini, CagA ve tip IV salgılama sistemi (T4SS) gibi virulans faktörlerine sahiptir. BabA, BabB, SabA, AlpA, AlpB, HopZ ve OipA proteinleri dış membran proteinleri olup, mikroorganizmanın mide epiteline bağlanmasını sağlamaktadır. Tip IV salgı sistemi (T4SS), Gram-negatif bakterilerin yüzeyinde eksprese edilen büyük bir taşıyıcı kompleks olup, temasa bağlı bir şekilde proteinlerin ve DNA'nın konakçı hücreye taşınmasını kolaylaştırmaktadır (Cheok ve ark.,2021).

H. pylori, sitotoksinle ilişkili protein A (CagA), vakuolize edici sitotoksin A (VacA) ve lipopolisakarit (LPS) gibi farklı virülans faktörleri yoluyla hem gastrik epitel inflamasyonunu hem de NF- κ B nükleer translokasyonu ve IL-8 üretimini indüklemektedir (Huang ve ark., 2021).

2.4. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter*'lerin İzolasyonu

Arcobacter spp.'yi farklı örneklerden (su, hayvansal gıda ürünleri, süt, rektal ve oral svap) izole etmek için çeşitli zenginleştirme ve izolasyon teknikleri kullanılmaktadır

(Shrestha ve ark., 2022). Besiyerini orijinal çevre koşullarına benzer şekilde oluşturacak belirli besinler ve supplementler ekleyerek zenginleştirmek çok önemlidir. *Arcobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla, *Arcobacter* selektif besiyeri ASB I, Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris-Polysorbate 80 besiyeri (EMJH P80), *Arcobacter* zenginleştirme besiyeri, Johnson ve Murano besiyeri (JMB), ASB II ve %2,5 NaCl ilave edilmiş *Arcobacter* besiyeri kullanılmaktadır (Rahman ve ark., 2020). Ayrıca zenginleştirme için Cefoperazone, amfoterisin, teikoplanin (CAT) supplement, Johnson–Murano besiyeri (JMB)'de kullanılmaktadır. Ön zenginleştirme amacıyla kullanılan besiyerlerine ilave edilen 5-florourasil, sefoperazon, piperasilin, trimetoprim, sikloheksimid, amfoterisin B, teikoplanin ve novobiyosin istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek, *Arcobacter* spp.'nin seçici olarak üremesine yardımcı olmaktadır. Ön zenginleştirmeyi takiben *Arcobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla yapılacak ekim için Cephalotin, vancomycin, amphotericin B (CVA) agar, Johnson-Murano (JM) agar, CAT supplement ilave edilmiş modifiye charcoal sefoperazone deoxycholate agar (mCCDA) gibi besiyerleri kullanılmaktadır (Shrestha ve ark., 2022; Ngyen ve ark., 2023). *A. butzleri* ayrıca kanlı agar, çikolata agar ve MacConkey agar gibi standart agarlarda 37°C'de ve %5 CO₂ ile zenginleştirilmiş atmosfer gibi standart koşullarda üremektedir (Binder ve ark., 2023).

Campylobacter spp.'nin izolasyonu için kullanılan seçici besiyerleri iki gruba ayrılmaktadır. Hayvan kanı ilave edilerek Skirrow agar, Blaseragar, Campy-Cefex agar ve Preston agar kullanılmaktadır. Bu besiyerlerinin dışında kan ilave edilmeden kullanılan modifiye sefoperazon charcoal deoxycholate agar (mCCDA) ve Karmali agar da bulunmaktadır (Chon ve ark., 2011). *Campylobacter* spp.'nin izolasyonunda zenginleştirme için kullanılan besiyerlerine belirli oranlarda hazırlanmış antibiyotik ve antifungal ajanlar eklenmelidir. Sefoperazon, trimetoprim ve vankomisin eklenmiş olduğu besiyerinde, Gram pozitif veya Gram negatif aerobik ve anaerobik bakterilerin üremesini inhibe etmektedir. Amfoterisin B ve sikloheksimid ise besiyerinde maya ve küf oluşumunu önlemek için eklenmektedir (Baaboua ve ark., 2022). Günümüzde izolasyon için en çok kullanılan besiyerleri modifiye charcoal sefoperazone deoxycholate agar (mCCDA), Skirrow, Campy BAP, Karmali ve Abeyta-Hunt-Bark dahil olmak üzere ilk günlerde geliştirilenlere ek olarak, Campy-Line dahil olmak üzere

birkaç yeni besiyeri geliştirilmiştir. Campy-Cefex ve son yirmi yılda ticari olarak temin edilebilen birkaç kromojenik agar kullanılmaktadır. Kullanılan mCCD agar içerisindeki kömür, besiyeri ortamında oluşabilen nitrit, nitrit oksit ve hidrojen peroksit gibi oksidatif stres meydana getiren ve bakterilerin üremesini engelleyen, toksik oksijen türevlerinin oluşumunu engellemektedir (Huang ve ark., 2022). 1972 yılında Dekeyser ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, ishali dışkıdan *Campylobacter* spp.'nin izolasyonu için ilk başarılı membran filtrasyon yöntemi tanımlanmıştır (Baaboua ve ark., 2022).

H. pylori'nin in vitro üretilmesi oldukça güçtür. İzolasyon şansını en üst düzeye çıkarmak için besiyerine kan veya serum ilave edilmektedir. Bunların dışında, lize edilmiş eritrositler veya hemin, β -siklodoktrin, odun kömürü, kolesterol ve demir sülfat, sodyum piruvat veya müsin de eklenmektedir (Lee ve ark., 2017). Testerman ve ark. yapmış oldukları bir çalışmanın sonucu olarak, *H. pylori*'nin besiyerinde üretilmesi için gerekli olan kimyasal karışımı Ham's-F12 Nutrient Mixture (F12) olarak tanımlamışlardır. Ayrıca, F12'nin kolesterol, sığır serum albümini veya fetal sığır serumu ile desteklenmesinin *H. pylori* üretilmesini daha da artırabileceğini göstermişlerdir (Melo ve ark.,2021). Besiyerine eklenen at veya koyun kanının oranı %7-10 arasında değişebilmektedir. Seçici besiyerleri içerisinde *H. pylori* izolasyonunda en sık kullanılanlar; Brain Heart Infüzyon agar (BHI), Columbia Blood Agar, Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brucella agar gibi besiyerleridir (Perez-Perez, 2000). Ayrıca *H. pylori*'nin izolasyonu ve zenginleştirme için kullanılan besiyerine belirli oranlarda karıştırılmış antibiyotik ve antifungal ajanlar ilave edilmektedir. *H. pylori* selektif supplement; Vancomycin, Trimethoprim, Cefsulodin, Amphotericin B içermektedir (Huang ve ark., 2021).

2.5. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter*'lerin İdentifikasyonu

2.5.1. Fenotipik Testler

Saf kültürü elde edilen *Arcobacter* spp. şüpheli izolatların fenotipik identifikasyonunda Gram boyama, hareket muayenesi ve biyokimyasal testler yapılmaktadır. *Arcobacter* spp. Gram negatif hücre duvar yapısına sahip olup, Gram boyamada pembe renkte boyanmaktadır. İdentifikasyonda kullanılan biyokimyasal testler; Oksidaz, Katalaz,

İndoksil asetat hidrolizi, Hippurat hidrolizi ve Üreaz aktivitesi testleridir (Aydın ve ark., 2007; Pérez-Cataluña ve ark.,2018; Çelik ve Otlu, 2020). *Arcobacter* spp.'nin düşük metabolik aktiviteleri nedeniyle fenotipik testler ile identifikasyonu zordur. Günümüzde *Arcobacter* spp.'nin genus ve tür düzeyinde tanımlanması moleküler testler kullanılarak yapılmaktadır (Jiménez-Guerra ve ark., 2020).

Campylobacter genusunun identifikasyonunda faz-kontrast mikroskobu altında karakteristik kampilobakter morfolojisi ve hareketliliği gözlemlenmektedir. Gram boyama reaksiyonu, Katalaz, Oksidaz ve Üreaz aktivitesi, Hippurat ve İndoksil asetatın hidrolizi, nitratın indirgenmesi, Triple sugar iron agar (TSI)'da H₂S üretimi, H₂ gereksinimi, MacConkey agarda üreme gibi özellikler, test edilen biyokimyasal özellikler arasında yer almaktadır (Aydın ve ark.,2020; Phung ve ark., 2022).

H. pylori'nin identifikasyonunda Gram boyama, Üreaz testi, Oksidaz, Katalaz ve demir eksikliği gibi biyokimyasal testler bakterinin saf kültürünün elde edilmesinden sonra şüpheli izolatların identifikasyonunda kullanılan testlerdir (Haamadi ve ark., 2021). *Helicobacter* spp. izolasyon ve identifikasyonunda kültür altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak *Helicobacter* spp.'nin invitro üreme koşullarındaki zorluklar nedeniyle araştırmacıları PCR gibi daha yüksek duyarlılığa sahip moleküler testleri kullanmaya yönelmektedir (Tarhane ve Otlu, 2019).

2.5.2. Moleküler Testler

Kültüre edilemeyen mikroorganizmaların, genus ve tür identifikasyonunda moleküler testler altın standart olarak kabul edilir. Ayrıca moleküler testler, suş tiplendirmesinin gerekli olduğu epidemiyolojik çalışmalarda oldukça değerlidir (Acke, 2018).

2.5.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), 1985 yılında oligonükleotid sentezi ve proteinler üzerine çalışmalar yapan Amerikalı biyokimyacı Kary Banks Mullis tarafından keşfedilmiştir ve bu keşif Kary Banks Mullis'e 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazandırmıştır (Kahya ve ark., 2013; Nazir ve ark., 2020). Nükleik asit problemlerinin kullanımıyla identifikasyon, hızlı ve yaygın olarak kullanılan bir metottur. Bunun için restriksiyon enzimi sindirimi, hibridizasyon veya nükleik asit dizisi belirlemesi ile birlikte DNA'nın amplifikasyonunu kullanan yöntem olan PCR geliştirilmiştir (Springer

ve ark., 1996). PCR, doğru tanı için çok yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikrobiyolojide PCR teşhis uygulamalarının temeli, infeksiyöz mikroorganizmaların saptanması ve bilinen spesifik genler sayesinde patojenik olmayan suşların patojenik suşlardan ayırt edilmesine dayanmaktadır (Rahman ve ark., 2013). PCR yöntemi, yalnızca bilinen bir patojen veya genin varlığını veya yokluğunu belirlemek için kullanılabilir (Garibyan ve Avashia, 2013). İnsan ve hayvan kaynaklı infeksiyöz hastalıkların epidemiyolojik çalışmalarında ve mikroorganizmaların virulansı, antibiyotik direnç geninin araştırılması gibi genetik çalışmalar da kullanılmaktadır (Türedi ve Şeker, 2023).

PCR'da kullanılacak olan DNA örnekleri, periferik kan, deri, kıl, tükürük ve mikroorganizmalar dahil olmak üzere çeşitli doku ve organizmalardan alınabilmektedir. Alınan bu DNA örneklerinin eser miktarda olması bile PCR için yeterli olabilmektedir ki bu özellik ile PCR hassasiyetini kanıtlamış olmaktadır (Garibyan ve Avashia, 2013).

PCR, bir DNA zincirinin kısa ve tanımlanmış bir bölümünü çoğaltmak için kullanılmaktadır. Çoğaltılması amaçlanan bu bölüm, tek bir gen parçası veya genin kısa bir parçası olabilmektedir. PCR yönteminde yalnızca 10 kilo baza (kb) kadar olan kısa DNA parçalarını kopyalayabilmektedir (Rahman ve ark., 2013). PCR ile analiz edilecek numunenin eser miktarda DNA ile herhangi bir şekilde genetik kontaminasyonu, yanlış pozitif sonuçlara yol açabilmektedir. Bu durum PCR yönteminin oldukça hassas olduğunu göstermektedir (Garibyan ve Avashia, 2013).

2.5.2.2. Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Multiplex PCR tekniği, aynı örnekte birden fazla primer çifti kullanarak ve genetik materyali aynı anda çoğaltarak, değerlendirmek için gereken reaksiyon sayısını azaltmaktadır ve bu sayede önemli ölçüde zaman ve emek tasarrufu sağlamaktadır (Putra ve ark., 2020; Türedi ve Şeker, 2023). Multipleks PCR testi ile aynı anda genus doğrulaması ve tür tayini olanağı kazanılmıştır (Acke, 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Çalışma kapsamında, Yozgat ili'nde, 2021 yılı Nisan-Ağustos ayları içerisinde farklı zamanlarda ziyaret edilen hayvan barınağında rastgele seçilen 88 köpeğin ağız boşluğundan steril tek kullanımlık fırça (cytobrush) ile alınan örnekler materyal olarak kullanıldı. Örnekler, fırça tüm ağız boşluğu ve diş etlerine olabildiğince temas ettirilerek alındı ve fırça örnekleri, içerisinde 1mL Brucella broth bulunan steril falkon tüplerine konuldu. Toplanan örnekler kısa sürede, soğuk zincir altında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı. Örnekler bakteriyolojik analiz yapılana kadar -80°C'de saklandı.

3.1.2. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp., ve *Helicobacter* spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Supplement, Besiyerleri ve Kimyasallar

Cefoperazone Teicoplanin Amphotericin (CAT) Selective Supplement

(Oxoid SR174)

İçindekiler	Miktar mg/vial
Cefoperazone	4.0
Teicoplanin	2.0
Amphotericin	5.0

Hazırlanışı: 500 ml besiyeri için, 1 vial CAT supplement 4 ml steril distile su ile süspanse edildi.

***Campylobacter* Selective Supplement (Skirrow) (Oxoid SR0069)**

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar mg/vial</u>
Vancomycin	5.0
Trimethoprim	2.5
Polymyxin B	1250 IU

Hazırlanışı: 500 ml besiyeri için, 1 vial Skirrow supplement 2 ml steril distile su ile süspanse edildi.

***Helicobacter pylori* Selective Supplement (Dent) (Oxoid SR0147)**

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar mg/vial</u>
Vancomycin	5.0
Trimethoprim	2.5
Cefsulodin	2.5
Amphotericin B	2.5

Hazırlanışı: 500 ml besiyeri için, 1 vial Dent supplement 2 ml steril distile su ile süspanse edildi.

***Brucella* Broth (Condalab 1223)**

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar g/l</u>
Enzymatic digest of casein	10
Sodium chloride	5
Enzymatic digest of animal tissues	10
Glucose	1
Yeast extract	2
Sodium hydrogen sülfite	0.1

Hazırlanışı: 14.05 g besiyeri hassas terazide tartılarak, 500 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında, besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve burada soğuması için bekletildi. Daha sonra *Arcobacter* spp. izolasyonu amacıyla hazırlanan ön zenginleştirme besiyeri için 4 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial CAT supplement, *Campylobacter* spp. izolasyonu amacıyla hazırlanan ön zenginleştirme besiyeri için ise 2 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial Skirrow supplement ilave edilip, buyyon homojenize edildi. Önceden sterilize edilmiş cam deney tüplerine 4’er ml aktarıldı ve hazırlanan besiyeri kullanılmaya kadar 4°C’de muhafaza edildi.

Brain Heart Infusion Broth (Condalab 1400)

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar g/l</u>
Dextrose	2
Disodium phosphate	2.5
Gelatin peptone	10
Sodium chloride	5
Heart infusion	10
Brain infusion	7.5

Hazırlanışı: Brain Heart Infusion yarı katı besiyeri hazırlamak için, 18.5 g BHI broth ve 0.375 g agar hassas terazide tartılarak, 465 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakikasterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında, besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve burada soğuması için bekletildi. İstenilen ısıya düşmüş olan besiyerine 35 ml at kanı ve 2 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial Dent supplement ilave edilip, besiyeri homojenize edildi. Önceden sterilize edilmiş cam deney tüplerine 4’er ml aktarıldı ve hazırlanan besiyeri kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edildi.

***Campylobacter* Agar Base Blood Free (CCDA) (Condalab 1129)**

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar g/l</u>
Enzymatic digest of casein	3
Activated charcoal	4
Bacteriological agar	12
Ferrous sulfate	0.25
Beef extract	10
Sodium chloride	5
Sodium deoxycholate	1
Sodium pyruvate	0.25
Enzymatic digest of animal tissues	10

Hazırlanışı: 22.75 g besiyeri hassas terazide tartılarak 500 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında, besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve burada soğuması için bekletildi. Daha sonra, 4 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial CAT supplement ilave edilip, besiyeri homojenize edildi. Her biri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donması için beklendi. Hazırlanan besiyeri kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edildi.

Blood Agar Base (Condalab 1108)

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar g/l</u>
Bacteriological agar	15
Meat peptone	10
Sodium chloride	5
Heart infusion	10

Hazırlanışı: 20 g besiyeri hassas terazide tartılarak 465 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakikasterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında, besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve burada soğuması için bekletildi. İstenilen ısıya düşmüş olan besiyerine 35 ml defibrine koyun kanı ve 2 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial Skirrow supplement ilave edilip, besiyeri homojenize edildi. Her biri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donması için beklendi. Hazırlanan besiyeri kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edildi.

Columbia Blood Agar Base (Neogen 2023)

<u>İçindekiler</u>	<u>Miktar g/l</u>
Columbia Peptone Mixture	25.1
Soluble Starch	1
Sodium Chloride	5
Agar	12

Hazırlanışı: 21.55 g besiyeri hassas terazide tartılarak 465 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda 121°C’de, 1 atm basınçta, 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında, besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu ve burada soğuması için bekletildi. İstenilen ısıya düşmüş olan besiyerine 35 ml defibrine at kanı ve 2 ml distile su ile süspanse edilen 1 vial Dent supplement ilave edilip, besiyeri homojenize edildi. Her biri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donması için beklendi. Hazırlanan besiyeri kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edildi.

Selüloz Asetat Membran Filtre (GVS, 1215576, USA)

Ön zenginleştirme sonrasında yapılacak olan membran filtrasyon tekniği için, gözenek çapı 0.45 µm, filtre çapı 47 mm olan selüloz asetat membran filtre kullanıldı.

Gram Boyama Seti

Ticari Gram Boyama Seti (GBL, 5026, Türkiye) kullanıldı.

Oksidaz Test Ayıracı

Ticari Bactident Oxidase (Merck, 113300, Almanya) test kitinden yararlanıldı.

Katalaz Test Ayıracı

Hydrogen peroxide (H₂O₂) (Merck, 117209, Almanya)

Hazırlanışı: Ticari %30' luk hidrojen peroksitten 3 ml alınarak 27 ml distile su ile karıştırıldı ve %3'lük H₂O₂ solüsyonu hazırlandı.

Hippurat Test Ayıracı

PBS (Phosphate Buffered Saline) içinde hazırlanan %1'lik sodyum hippurat solüsyonu, filtrasyon yöntemi ile sterilize edildi. Steril tüplere paylaştırılarak 20°C'de muhafaza edildi. 3.5 g ninhidrin, 50 ml aseton ve 50 ml bütanol kullanılarak hazırlanan %3.5 ninhidrin solüsyonu ise taze olarak kullanıldı.

Mikroaerobik Ortam Jar ve Kitleri

Arcobacter spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin üretilmesi esnasında mikroaerobik ortamı sağlamak için, anaerobik jar (Merck, M116387.0001) ve mikroaerobik ortam sağlayan ticari kitler (Anaerocult C, Merck M116275.0001) kullanıldı.

3.1.3. Standart Suş

Arcobacter spp.'nin kültürel ve moleküler analizlerinde, kontrol suş olarak *Arcobacter butzleri* LMG 10828 standart suşu ile Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonunda bulunan *Arcobacter* spp. suşları kullanıldı.

Campylobacter spp.'nin kültürel ve moleküler analizlerinde, kontrol suş olarak *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 standart suşu ile Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonunda bulunan *Campylobacter* spp. suşları kullanıldı.

Helicobacter spp.'nin kültürel ve moleküler analizlerinde, kontrol suş olarak *Helicobacter pylori* ATCC 700824 standart suşu ile Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonunda bulunan *Helicobacter* spp. suşları kullanıldı.

3.1.4. Moleküler Analizde Kullanılan Kimyasallar

DNA Ekstraksiyon Kiti

Genomik DNA Ekstraksiyon Kiti (Transbio EasyPure EE101-12) kullanıldı.

10X PCR Buffer

MgCl₂ içermeyen, 10X ViBuffer A (Vivantis, RB0201, Malezya) kullanıldı.

Deoxynucleotide Trifosfat (dNTP)

10 mM dNTP Mix (Vivantis, NP2410, Malezya) kullanıldı.

Magnezyum klorür (MgCl₂)

25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific, R0971, USA) kullanıldı.

Taq DNA Polymerase

5 U/μl Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific, EP0402, USA) kullanıldı.

Primerler

Elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. izolatlarının ve örneklerden direkt moleküler identifikasyon amacıyla kullanılan primerler Tablo 3.1. de verilmiştir.

Tablo 3.1. Moleküler analizde kullanılan primer listesi

Hedef Gen	Primer	Primer Dizileri (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)	Referans
16S rRNA <i>Arcobacter</i> Genus	Arco I	AGA GAT TAG CCT GTA TTG TAT	1223	Harmon ve Wesley (1996)
	Arco II	TAG CAT CCC CGCTTC GAA TGA		
<i>Arcobacter</i> tür	BUTZ	CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATG A	401	Houf ve ark. (2000)
	Arco 16S	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC	641	
	SKIR	GGC GAT TTA CTG GAA CAC A		
	Arco 16S	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC	257	
	CRY1	TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA		
CRY2	AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC			
16S rRNA <i>Campylobacter</i> Genus	C412F	GGATGACACTTTTCGGAGC	816	Linton ve ark. (1996)
	C1288R	CATTGTAGCACGTGTGTC		
<i>C. jejuni hipO</i>	CJF	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC	323	Wang ve ark. (2002)
	CJR	GCCACAACAAGTAAAGAAGC		
<i>C. coli glyA</i>	CCF	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG	126	
	CCR	TCCAGCAATGTGTGCAATG		
<i>C. lari glyA</i>	CLF	TAGAGAGATAGCAAAAAGAGA	251	
	CLR	TACACATAATAATCCCACCC		
<i>C. upsaliensis glyA</i>	CUF	AATTGAAACTCTTGCTATCC	204	
	CUR	TCATACATTTTACCCGAGCT		
<i>C. fetus sapB2</i>	CFF	GCAAATATAAATGTAAGCGGAGAG	435	
	CFR	TGCAGCGGCCCCACCTAT		
<i>C. jejuni</i> 23S rRNA	23SF	TATACCGGTAAGGAGTGCTGGAG	650	
	23SR	ATCAATTAACCTTCGAGCACCG		
16S rRNA <i>Helicobacter</i> Genus	16SF	CTATGACGGGTATCCGGC	780	Al-Soud ve ark. (2003)
	16SR	CTCACGACACGAGCTGAC		

10X Tris-borate-EDTA (TBE) Electrophoresis Buffer (Thermo Scientific, B52)

Hazırlanışı: 50 ml 10X TBE Buffer ve 950 ml distile su karıştırılarak, 0.5X TBE solüsyonu hazırlandı.

Agaroz Jel (Fisher Scientific Agarose, BP1356-100, USA)

Hazırlanışı: %1.5'lik agaroz jel hazırlamak amacıyla, 1.5 g agaroz tartıldı ve 100 ml 0.5X TBE eklendikten sonra, mikrodalga fırında eritildi. Eritilen jel, ısısı 50°C'ye ayarlanmış olan su banyosuna alındı ve ısısı düşüldükten sonra içerisine 6 µl ethidium bromide eklendi ve homojenize edildikten sonra, elektroforez küvetine dökülerek kullanıma uygun hale getirildi.

Ethidium Bromide

Ticari %1'lik Ethidium Bromide boyası (Gerbu, 1341, Almanya) kullanıldı.

6X Loading Dye

Ticari 1 ml'lik 6X Loading Dye (Vivantis, NM0410, Malezya) kullanıldı.

DNA Ladder

Ticari GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific SM0321) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin İzolasyonu

3.2.1.1. *Arcobacter* spp. İzolasyonu

Köpek ağız boşluğundan alınan ve -80°C'de dondurulan ağız fırça örneklerinin, *Arcobacter* spp. izolasyonu amacıyla, oda ısısında bekletilerek çözünmesi sağlandı. İçerisinde 1 ml Brucella broth bulunan steril falkonlardaki fırça örneklerinden 20 µL alınarak Cephoperazone-Amphotericin-Teicoplanin (CAT) supplementi içeren modified charcoal cephoperazone deoxycholate (mCCD) agara direkt olarak ekim yapıldı. Ekim yapılan petriyerler 37°C'de, mikroaerobik (Gas Generating kits, Anaerocult C, Merck, Germany) ortamda, 48-72 saat inkübasyona tabi tutuldu. İnkübasyon sonrasında küçük,

smooth, açık beyaz ve gri görünümlü *Arcobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek %7 koyun kanlı agarda (Merck, 110328, Germany) saf kültürleri elde edildi.

Ayrıca, *Arcobacter* spp. izolasyonu için ön zenginleştirmeyi takiben membran filtrasyon tekniği de kullanıldı. Örnekten 230 µL alınarak CAT supplement ilaveli 4 mL Brucella Broth içeren falkon tüplerine aktarıldı ve homojenize edildi. Ekim yapılan zenginleştirme besiyerleri 30°C'de, mikroaerobik (Gas Generating kits, Anaerocult C, Merck, Germany) ortamda, 48 saat ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu (Aydın ve ark., 2007; Aydın ve ark., 2020). İnkubasyonu takiben zenginleştirme kültüründen 200 µL alınarak %7 koyun kanlı agarı üzerine yerleştirilen 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat membran filtreler (47 mm çapındaki) kullanılarak membran filtrasyon işlemi gerçekleştirildi. Filtrasyonun yapıldığı petriyerler, 37°C'de, aerobik ortamda 48-72 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonrasında küçük, smooth, açık beyaz ve gri görünümlü *Arcobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek %7'lik koyun kanlı agarda saf kültürleri elde edildi. *Arcobacter* spp.'nin izolasyon aşamaları Şekil 3.2.2.1.'de verilmiştir.

3.2.1.2. *Campylobacter* spp. İzolasyonu

Köpek ağız boşluğundan alınan ve -80°C'de dondurulan fırça örneklerinin, *Campylobacter* spp. izolasyonu amacıyla, oda ısısında bekletilerek çözünmesi sağlandı. İçerisinde 1 ml Brucella broth bulunan steril falkonlardaki fırça örneklerinden 20 µL alınarak, Skirrow supplement (vancomycin, trimethoprim, polymyxin B) ilaveli %7'lik koyun kanlı agara direkt olarak ekim yapıldı. Ekim yapılan petriyerler 37°C' de, mikroaerobik ortamda, 72 saat inkubasyona tabi tutuldu. İnkubasyon sonrasında *Campylobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek %7'lik koyun kanlı agarda saf kültürleri elde edildi.

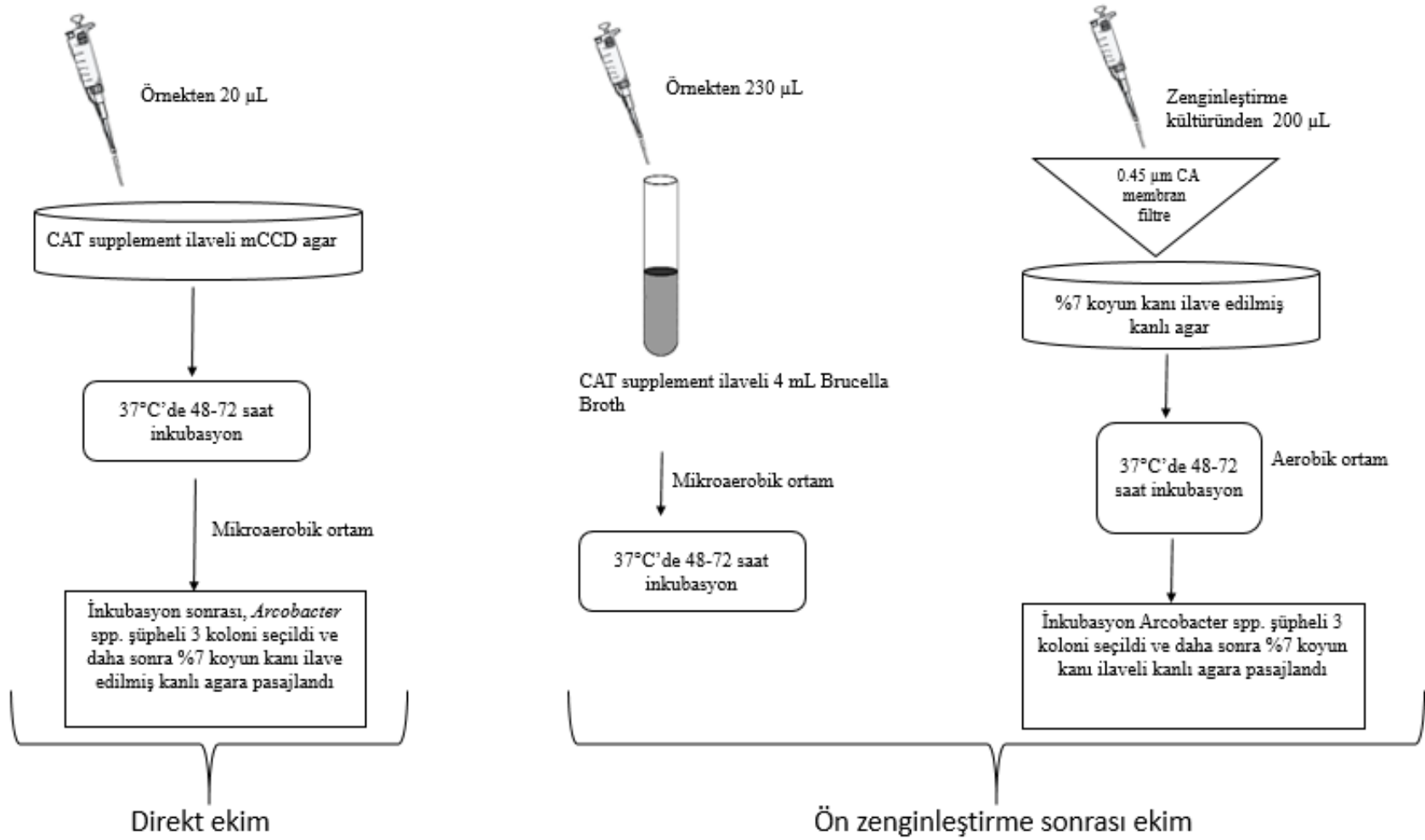
Ayrıca, *Campylobacter* spp. izolasyonu için ön zenginleştirmeyi takiben membran filtrasyon tekniği de kullanıldı. Örnekten 230 µL alınarak Skirrow supplement ilaveli 4 mL Brucella broth içeren falkon tüplerine aktarıldı ve homojenize edildi. Ekim yapılan zenginleştirme besiyerleri 37°C'de, mikroaerobik (Gas Generating kits, Anaerocult C, Merck, Germany) ortamda, 48 saat ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. İnkubasyonu takiben zenginleştirme kültüründen 200 µL alınarak %7 koyun kanlı agarı üzerine yerleştirilen 0.45 µm por çapına sahip selüloz asetat membran filtreler (47 mm

çapındaki) kullanılarak membran filtrasyon işlemi gerçekleştirildi. Filtrasyonun yapıldığı petripler, 37°C’de, mikroaerobik ortamda 72 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonrasında *Campylobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek %7’lik koyun kanlı agarda saf kültürleri elde edildi. *Campylobacter* spp. izolasyon aşamaları, Şekil 3.2.2.2.’de verilmiştir.

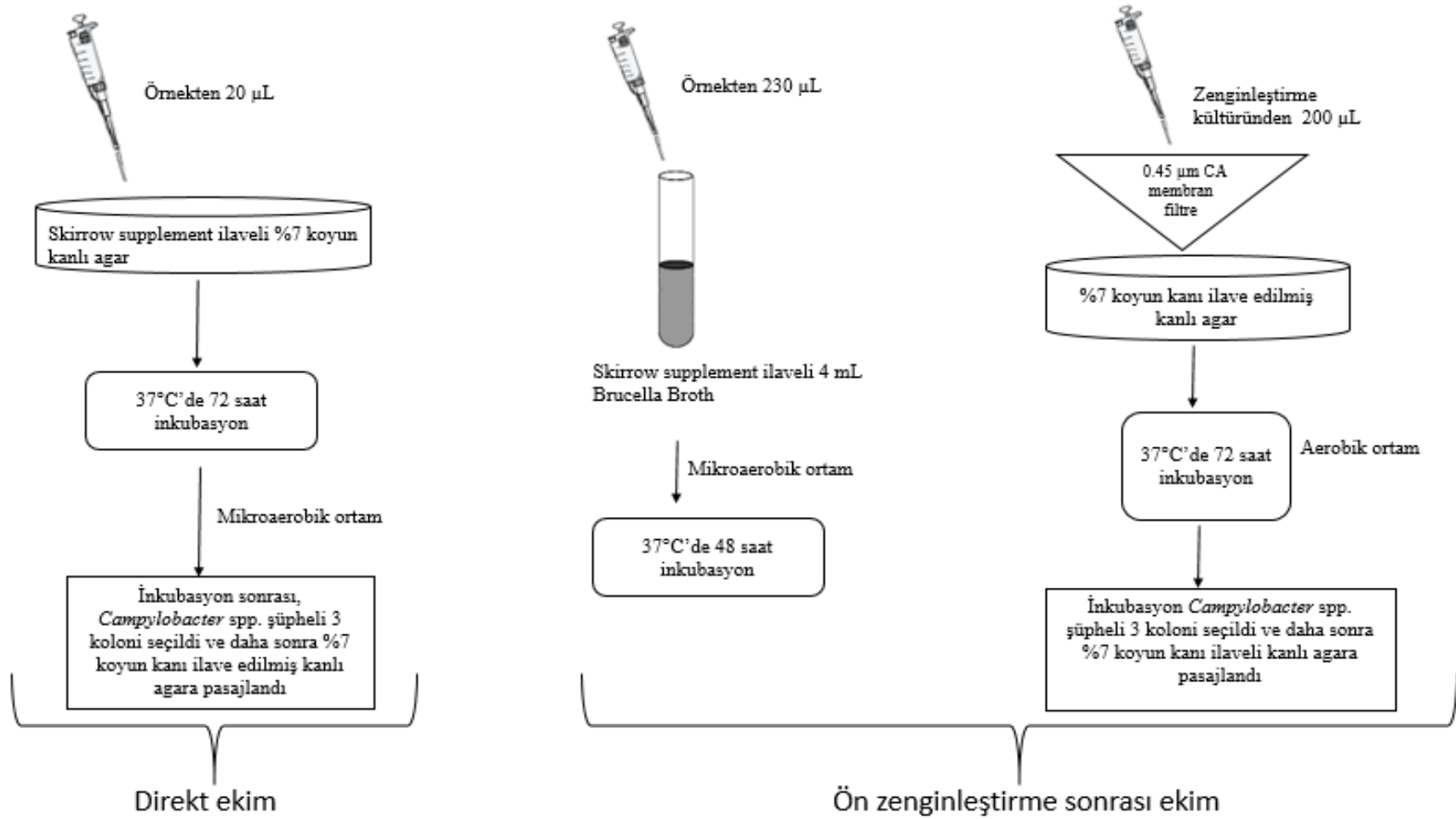
3.2.1.3. *Helicobacter* spp. İzolasyonu

Köpek ağız boşluğundan alınan ve -80°C’de dondurulan fırça örneklerinin, *Helicobacter* spp. izolasyonu amacıyla, oda ısısında bekletilerek çözünmesi sağlandı. İçerisinde 1 ml Brucella broth bulunan steril falkonlardaki fırça örneklerinden 20 µL alınarak, *Helicobacter* Selective Supplement (vancomycin, trimethoprim, cefsulodin ve amphotericin B, Dent) ve %7 at kanı içeren Columbia Blood agara direkt olarak ekim yapıldı. Ekim yapılan petripler 37°C’ de, mikroaerobik (Gas Generating kits, Anaerocult C, Merck, Germany) ortamda, 5-6 gün inkubasyona tabi tutuldu. İnkubasyon sonrasında *Helicobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek, %7 at kanı içeren Columbia Blood agarda saf kültürleri elde edildi.

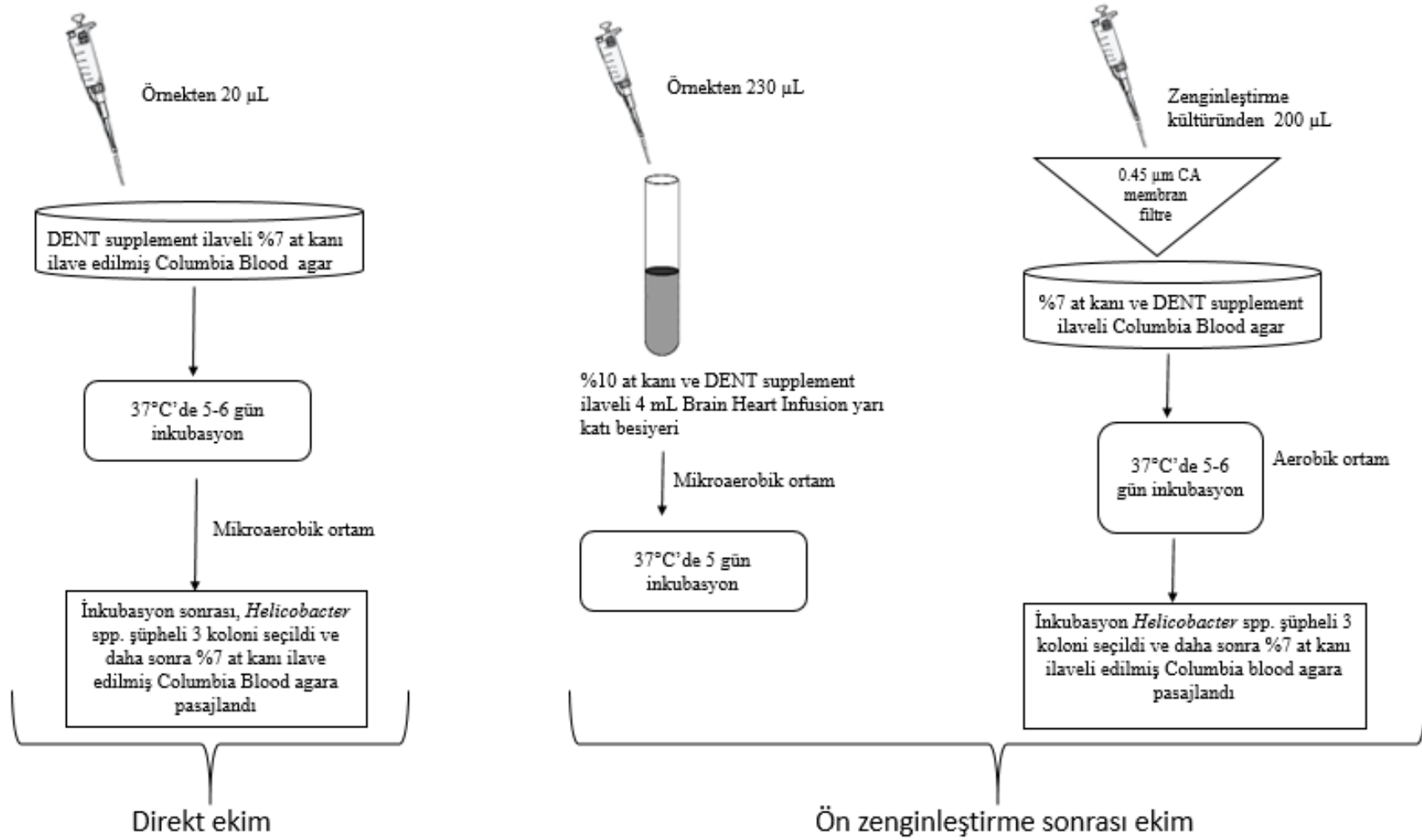
Ayrıca, *Helicobacter* spp. izolasyonu için ön zenginleştirmeyi takiben membran filtrasyon tekniği de kullanıldı. 230 µL alınarak %7 oranında at kanı ilave edilmiş 4 mL Brain Heart Infusion yarı katı besiyerine aktarıldı. Ekim yapılan yarı katı besiyerleri 37°C’de, mikroaerobik (Gas Generating kits, Anaerocult C, Merck, Germany) ortamda, 5 gün ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. İnkubasyonu takiben zenginleştirme kültüründen 20 µL alınarak Dent supplement ve %7 at kanı içeren Columbia Blood agara direkt ekim yapıldı. Ekim yapılan petripler, 37°C’de, mikroaerobik ortamda, 5-6 gün inkübe edildi. İnkubasyon sonrasında *Helicobacter* spp. şüpheli kolonilerden 3 koloni seçilerek %7 at kanı içeren Columbia Blood agarda saf kültürleri elde edildi. *Helicobacter* spp.’nin izolasyon aşamaları, Şekil 3.2.2.3.’de verilmiştir.



Şekil 3.2.2.1. *Arcobacter* spp. izolasyon aşamaları, direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim



Şekil 3.2.2.2. *Campylobacter* spp. izolasyon aşamaları, direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim



Şekil 3.2.2.3. *Helicobacter* spp. izolasyon aşamaları, direkt ekim ve ön zenginleştirme sonrası ekim

3.2.2. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. İzolatlarının İdentifikasyonu

Çalışmada elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. şüpheli izolatlar, Gram boyama, hareket, Oksidaz, Katalaz ve Hippurat testi gibi fenotipik testler yapılarak tanımlandı (Aydın ve ark., 2020). Bu testler sonucunda Gram negatif, hareketli, kıvrımlı, sarmal, S ya da virgül görünümünde, katalaz ve oksidaz testleri pozitif olan bakteriler *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp. olarak tanımlandı.

Ayrıca, elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'ye ait şüpheli izolatların moleküler identifikasyonu amacıyla, genus spesifik ve tür spesifik PCR yöntemlerinden yararlanıldı.

3.2.2.1. Fenotipik Testler

Gram Boyama

Elde edilen saf kültürden preparat hazırlandı, kurutuldu ve tespit edildi. Preparat üzerine kristal violet solüsyonu dökülüp 3 dakika beklendi. Sürenin sonunda boya döküldü ve preparat üzerine lügol solüsyonu konularak 2 dakika beklendi. Daha sonra preparat renksiz akıncaya kadar alkol ile dekolore edildi. Sonrasında su ile yıkanıp, preparat safranin ile 30 saniye boyandı. Su ile yıkanarak boya giderildi. Kurutma kağıdı yardımıyla kurutuldu ve üzerine sedir yağı konarak mikroskobun immersiyon objektifi ile muayene edildi (Smith ve Hussey, 2005). Gram negatif (pembe kırmızı renkli), 'S' şeklinde, kavisli çubuk formunda, martı kanadı ve ya virgül görünümündeki mikroorganizmalar *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. için pozitif olarak değerlendirildi.

Hareket Muayenesi

Temiz bir lam üzerine, bir damla (10 µl) fizyolojik tuzlu su (FTS) damlatıldı. Elde edilen saf kültürden steril bir öze yardımıyla bir koloni alınarak FTS ile homojenize edildi ve üzerine lamel kapatıldı. Hareket muayenesi için hazırlanan bu preparat üzerine immersiyon yağı damlatılarak, ışık mikroskobunda incelendi. Yapılan muayene sonucunda kıvrımlı, martı kanadı şeklinde veya 'S' şeklindeki hareketli mikroorganizmalar pozitif olarak değerlendirildi (Arda, 2011).

Oksidaz Testi

Bu test için ticari Bactident Oxidase kiti kullanıldı. Kit içerisinde bulunan kağıt oksidaz test şeriti üzerine, elde edilen saf kültürden steril bir öze yardımıyla bir koloni alınarak sürüldü ve 30 saniye beklendi. Süre sonunda şerit üzerinde mavi-mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi. Renk oluşumu gözlenmeyen izolatlar negatif olarak değerlendirildi (Arda, 2011).

Katalaz Testi

Bu test için temiz bir lam üzerine 1-2 damla % 3 lük H₂O₂ konulduktan sonra, elde edilen saf kültürden steril bir öze yardımıyla bir miktar koloni alınarak homojenize edildi. Bu esnada preparat üzerinde hava kabarcıklarının gözlemlenmesi, testin pozitif olarak değerlendirilmesini sağladı (Arda, 2011).

Hippurat Hidrolizasyon Testi

Elde edilen saf kültürden steril bir öze yardımıyla bir miktar alınarak, içerisinde 0.4 mL sodyum hippurat çözeltisi bulunan tüp içerisine ekim yapıldı ve 37°C'de 2 saat süreyle su banyosunda inkubasyona kaldırıldı. İnkubasyon süresi sonunda, %3.5'lik ninhidrin ayırıcından her bir tüpe 0.2 mL ilave edilerek 15-20 dakika daha inkubasyona devam edildi. Sürenin sonunda koyu mavi renk oluşumu hippurat pozitif, açık mavi veya renk oluşmaması hippurat negatif olarak değerlendirildi (Hwang ve Ederer, 1975).

3.2.2.2. Moleküler İdentifikasyon

DNA ekstraksiyonu

Hem elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. izolatlarının identifikasyonlarında hem de ağız fırça örneklerinden etkenlerin direkt saptanmasında başvurulacak PCR analizlerinde kullanılmak üzere, DNA ekstraksiyonları gerçekleştirildi. Bu amaçla ticari Genomik DNA Ekstraksiyon Kiti (Transbio EasyPure EE101-12) kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.2.2.2.1. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin PCR ile Genus düzeyinde tanımlanması

Kültürel analizler sonucu elde edilen ve fenotipik testler ile *Arcobacter* spp. olarak tanımlanan izolatların ve ayrıca ağız fırça örneklerinden direkt PCR analizi ile *Arcobacter* yönünden Genus düzeyinde identifikasyonu amacıyla; Harmon ve Wesley (1996)'in bildirdiği *Arcobacter* Genus spesifik PCR yönteminden yararlanıldı. PCR reaksiyon karışımı, 3 µl DNA, 2.5 µl 10X PCR buffer, 3 µl MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl dNTP karışımı (10 mM), 0.4 µl Taq polymerase (5 U/µl), her bir primerden 1 µl ve final konsantrasyonu deiyonize steril distile su ile 25 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 4 dakika ön denaturasyonu takiben, 94°C'de 1 dakika denaturasyon, 56°C'de 1 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 1 dakika primer uzamasından oluşan 25 siklus ve son olarak da 72°C'de 7 dakika final uzama aşaması olacak şekilde gerçekleştirildi.

Kültürel analizler sonucu elde edilen ve fenotipik testler ile *Campylobacter* spp. olarak tanımlanan izolatların, ayrıca ağız fırça örneklerinden direkt PCR analizi ile *Campylobacter* yönünden Genus düzeyinde identifikasyonu amacıyla; Linton ve ark. (1996)'nın bildirdiği *Campylobacter* Genus spesifik PCR yönteminden yararlanıldı. PCR reaksiyon karışımı; 3 µl DNA, 2.5 µl 10x PCR buffer, 3 µl MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl dNTP karışımı (10 mM), 0.4 µl Taq polimeraz (5 U/µl), 1 µl C412F primeri, 1 µl C1288R primeri, ve final konsantrasyonu deiyonize steril distile su ile 25 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon koşulları ise; 94°C'de 5 dakika ön denaturasyonu takiben, 94°C'de 1 dakika denaturasyon, 55°C'de 1 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 1 dakika primer uzamasından oluşan 25 siklus ve sonrasında 72°C'de 5 dakika final uzama olacak şekilde gerçekleştirildi.

Kültürel analizler sonucu elde edilen ve fenotipik testler ile *Helicobacter* spp. olarak tanımlanan izolatların, ayrıca ağız fırça örneklerinden direkt PCR analizi ile *Helicobacter* yönünden Genus düzeyinde identifikasyonu; Al-Soud ve ark. (2003)'nın bildirdiği *Helicobacter* Genus spesifik PCR yönteminden yararlanıldı. PCR reaksiyon karışımı; 3 µl DNA, 2.5 µl 10x PCR buffer, 3 µl MgCl₂ (25mM), 0.5 µl dNTP karışımı (10mM), 0.4 µl Taq polimeraz (5 U/µl), 1 µl 16S rRNA-F primeri, 1 µl 16S rRNA-F primeri, ve final konsantrasyonu deiyonize steril distile su ile 25 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon koşulları ise; 94°C'de 2 dakika ön denaturasyonu takiben,

94°C’de 30 saniye denaturasyon, 55°C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72°C’de 30 saniye primer uzamasından oluşan 30 siklus ve sonrasında 72°C’de 5 dakika final uzama olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.2.2.2.2. *Arcobacter* spp. ve *Campylobacter* spp.’nin Multiplex PCR (mPCR) ile tür düzeyinde tanımlanması

Genus düzeyinde *Arcobacter* spp. olarak tanımlanan izolatlar, Houf ve ark. (2000)’nin bildirdiği mPCR ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. PCR işlemi, 50µl hacimde gerçekleştirilmiş olup 5 µl 10XPCR buffer (50 mM Tris-HCl, 10mM KCl), 0.2 mmol her bir dNTP’den, 1.25 mmol MgCl₂, 1.5 U FastStart Taq polymerase (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), 50 pmol ARCO, BUTZ, CRY1, CRY2 ve 25 pmol SKIR primerlerini ve 2 µl DNA’yı içerdi. Amplifikasyon koşulları ise; 94°C’de 2 dakika başlangıç denaturasyonu takiben 94°C’de 45 saniye denaturasyon, 61°C’de 45 saniye primer bağlanması ve 72°C’de 30 saniye primer uzamasından oluşan 32 siklus olacak şekilde gerçekleştirildi.

Genus düzeyinde *Campylobacter* spp. olarak tanımlanan izolatlar, Wang ve ark. (2002)’nin bildirdiği mPCR ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. PCR reaksiyon karışımı; 2.5 µl DNA, 2.5 µl 10x PCR buffer, 20 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP karışımı, 0.5 µM *C.jejuni* ve *C.lari*; 1 µM *C.coli*, 2 µM *C.upsaliensis*, 0.2 µM *C. fetus*, 0.2 µM *Campylobacter* 23S rRNA primerleri, 1.25 U Taq polimeraz ve final konsantrasyonu steril distile su ile 25 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon koşulları ise; 95°C’de 6 dakika başlangıç denaturasyonu takiben, 95°C’de 30 saniye denaturasyon, 59°C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72°C’de 30 saniye primer uzamasından oluşan 35 siklus ve sonrasında 72°C’de 7 dakika final uzama olacak şekilde gerçekleştirildi.

Agaroz Jel Elektroforezis ve Görüntüleme

Elde edilen *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. izolatlarının genus ve tür düzeyinde moleküler identifikasyonu aşamasında elde edilen amplifikasyon ürünleri %1.5’luk agaroz jelde 120V, 500 mA’de 50 dakika elektroforeze tabi tutulup koşturulduktan sonra, jel görüntüleme sisteminde (Syngene G:Box F3) görüntülenerek değerlendirilmeye alındı.

3.2.3. İstatiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde; IBM SPSS 21,0 (Statistical Package for Social Scienses), Minitab 16 paket programları kullanıldı. Kategorik yapıdaki verilerin frekans tabloları ve yüzdeleri verilerle, Ki'kare testleri (Fisher's exact, Yates, Pearson) uygulandı.



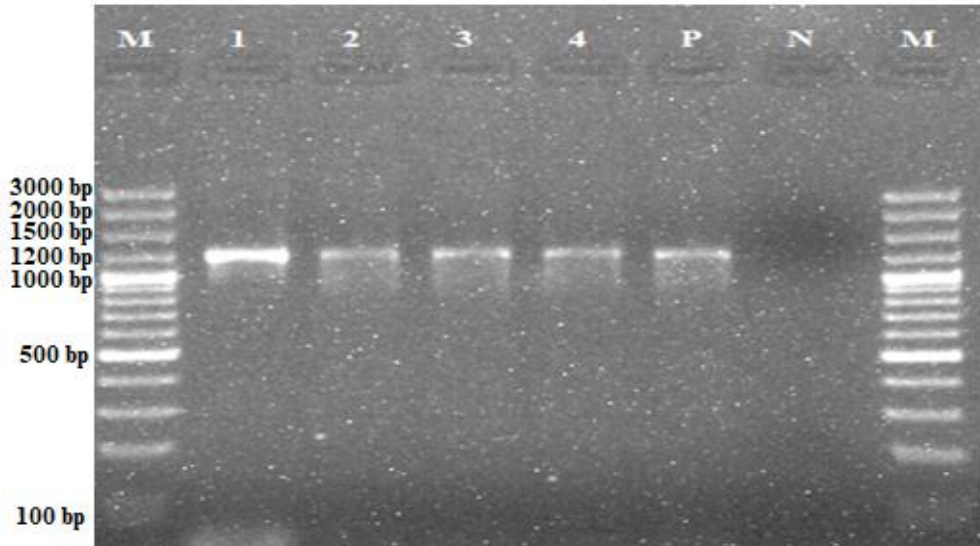
4. BULGULAR

4.1. *Arcobacter* spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu

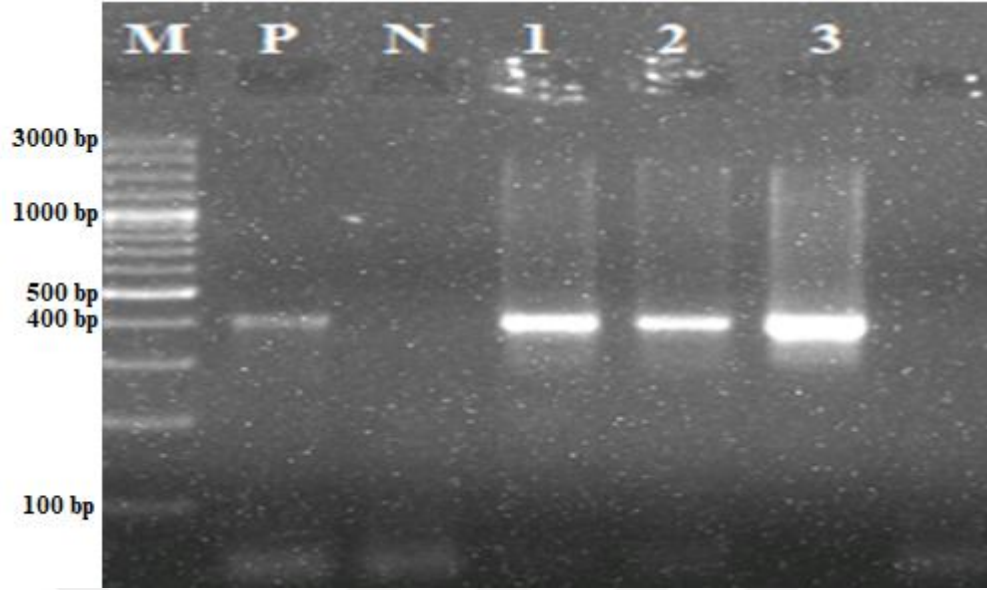
Çalışmada, *Arcobacter* spp. için yapılan kültürel yoklama sonucunda, analiz edilen 88 ağız fırça örneklerinin tümü negatif olarak saptandı.

4.2. Ağız Fırça Örneklerinden *Arcobacter* spp. Varlığının PCR ile Araştırılması

Çalışmada 88 adet ağız fırça örneğinin 4 (%4.5)'ü genus spesifik PCR yöntemi ile 1223 bp büyüklüğünde bant verdi ve bu dört örnek *Arcobacter* spp. yönünden pozitif bulundu (Şekil 4.2.1). Ayrıca, bu dört örneğin tür düzeyinde tanımlanması için gerçekleştirilen *Arcobacter* mPCR sonucunda, 3'ü *Arcobacter butzleri* olarak identifiye edildi (Şekil 4.2.2.).



Şekil 4.2.1. *Arcobacter* Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'lük agaroz jel görüntüsü
M: Marker (100-3000 bp) DNA Ladder (Thermo Scientific, USA), **1-4:** Ağız fırça örnekleri (1223 bp), **P:** Pozitif kontrol, *A. butzleri* LMG 10828 standart suş (1223 bp), **N:** Negatif kontrol (steril distile su).



Şekil 4.2.2. *Arcobacter* tür spesifik mPCR ürünlerinin %1.5'lük agaroz jel görüntüsü
M: Marker (100-3000 bp) DNA Ladder (Thermo Scientific, USA), **P:** Pozitif kontrol, *A. butzleri* LMG 10828 standart suş (**401 bp**), **N:** Negatif kontrol (steril distile su), **1-3:** Ağız fırça örnekleri (**401 bp**).

4.3. *Campylobacter* spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Çalışmada, *Campylobacter* spp. için yapılan kültürel yoklamada, analiz edilen 88 ağız fırça örneğinden 15 (%17)'inden üreyen kolonilerin morfolojik ve fenotipik özellikleri ile, toplam 19 izolat *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı (Tablo 4.1.). Fenotipik testlerle *Campylobacter* spp. olarak tanımlanan 15 örneğin 11'inden tek tip koloni, 4'ünden ise 2 farklı koloni olmak üzere toplam 19 izolat elde edildi. Elde edilen 19 izolattın, 1'i *Campylobacter* spp. izolasyonu için kullanılan besiyerinden (Ön zenginleştirme ve Skirrow supplement ilaveli koyun kanlı agar), 1'i *Arcobacter* spp. izolasyonu için kullanılan besiyerinden (Ön zenginleştirme ve CAT supplement ilaveli mCCDA agar), 17'si ise *Helicobacter* spp. izolasyonu için kullanılan besiyerinden (Ön zenginleştirme ve Dent supplement ilaveli Columbia Blood agar) üretti. Elde edilen 19 *Campylobacter* spp. izolatu *Campylobacter* genus spesifik PCR ile analizinde tüm izolatlar 816 bp büyüklüğünde bant verdi ve tüm izolatlar *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı (Şekil 4.4.1).

Tablo 4.1. *Campylobacter* spp. (n=19) izolatlarının fenotipik identifikasyonu amacıyla kullanılan testler ve sonuçlar

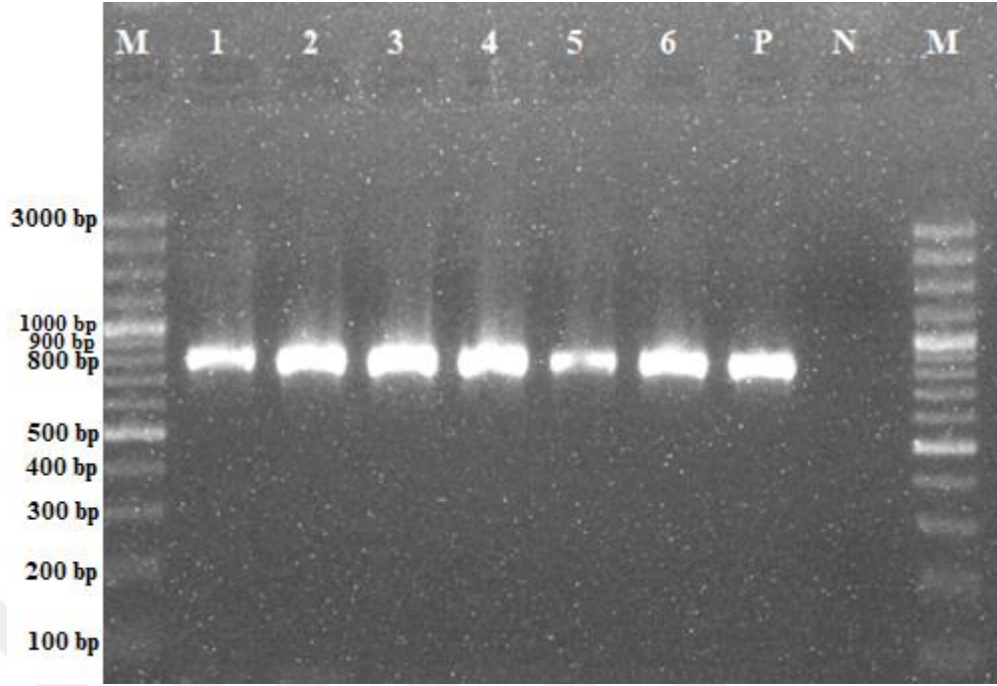
Fenotipik Test	Sonuç (n=19)
Gram Boyama	Gram negatif
Oksidaz	+
Katalaz	+
Hareket	+
Hippurat	-

+: pozitif, -: negatif

Campylobacter genus spesifik PCR sonucunda pozitif olduğu saptanan 19 *Campylobacter* izolatının tür düzeyinde tanımlaması için gerçekleştirilen mPCR sonucunda, izolatların 7'si 650 bp büyüklüğünde bant vermesine karşın, tür düzeyinde herhangi bir pozitiflik saptanmadı.

4.4. Ağız Fırça Örneklerinden *Campylobacter* spp. Varlığının PCR İle Araştırılması

Çalışmada, analiz edilen 88 adet ağız fırça örneğinin 80 (%90)'i genus spesifik PCR ile 816 bp büyüklüğünde bant vererek (Şekil 4.4.1.). *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. *Campylobacter* tür spesifik PCR sonucunda ise örneklerde tür düzeyinde herhangi bir pozitiflik saptanmadı.



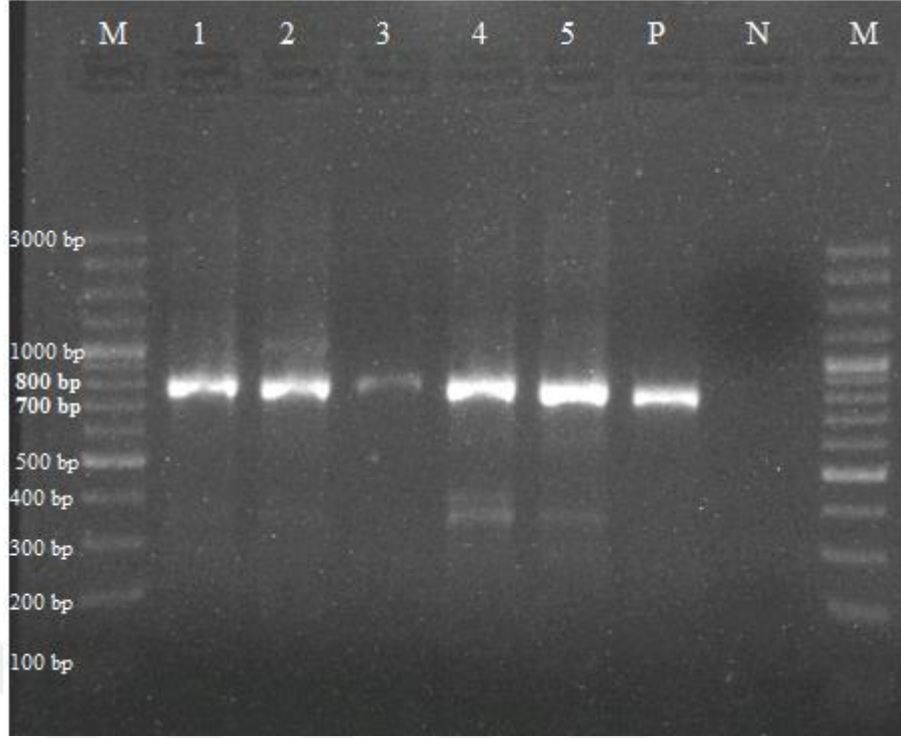
Şekil 4.4.1. *Campylobacter* Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü **M:** Marker (100-3000 bp) DNA Ladder (Thermo Scientific, USA), **1-3:** Ağız fırça örneklerinden elde edilen *Campylobacter* spp. izolatları (**816 bp**), **4-6:** Ağız fırça örnekleri (**816 bp**), **P:** Pozitif kontrol, *C. jejuni* NCTC 11168 standart suş (**816 bp**), **N:** Negatif kontrol (steril distile su).

4.5. *Helicobacter* spp.'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Çalışmada, *Helicobacter* spp. için yapılan kültürel yoklama sonucunda, analiz edilen 88 ağız fırça örneklerinin tümü negatif olarak saptandı.

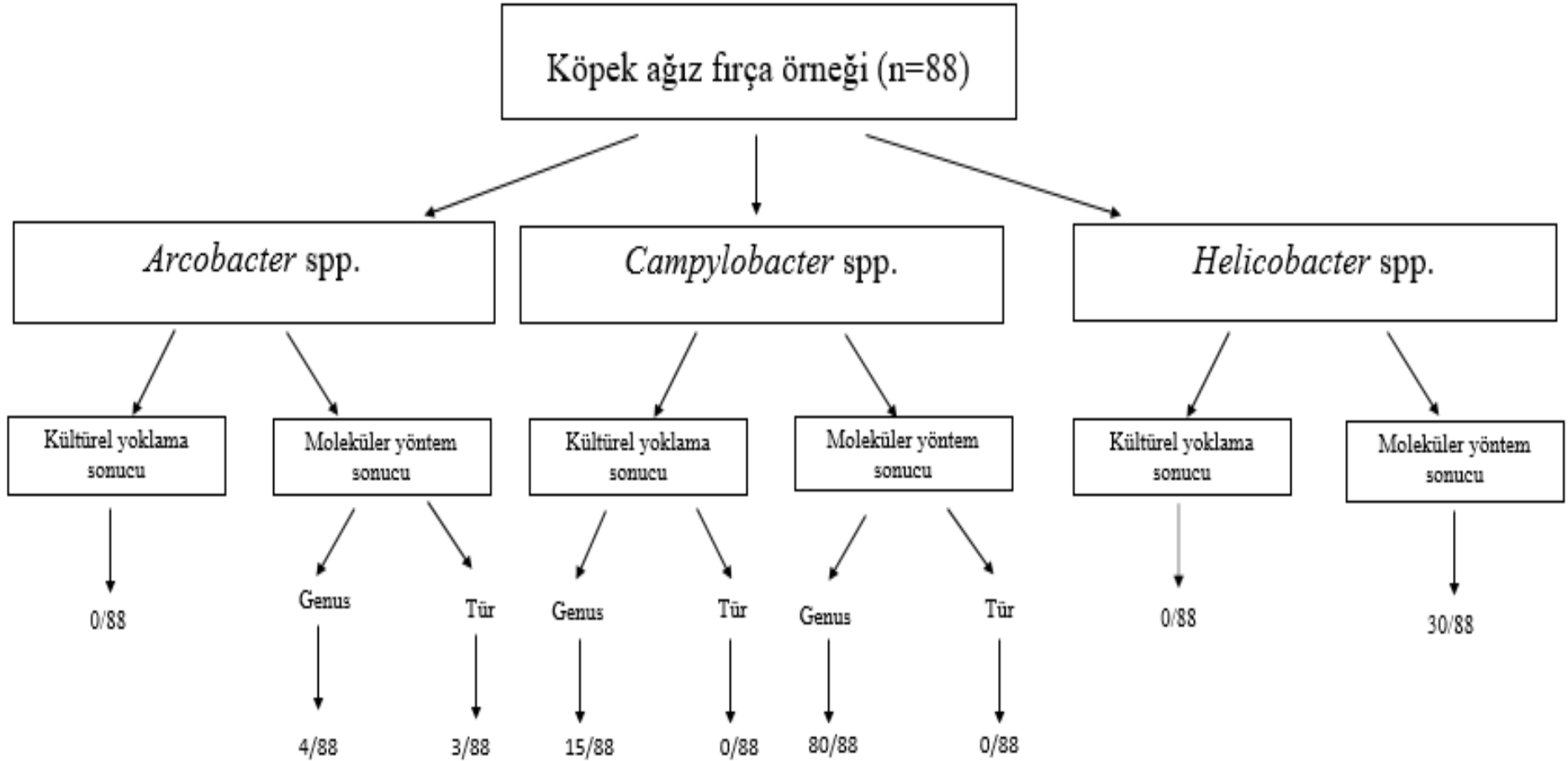
4.6. Ağız Fırça Örneklerinden *Helicobacter* spp. Varlığının PCR İle Araştırılması

Çalışmada 88 adet ağız fırça örneğinin 30 (%34)'u genus spesifik PCR yöntemi ile 780 bp büyüklüğünde bantlar verdi ve bu 30 örnek *Helicobacter* spp. yönünden pozitif bulundu (Şekil 4.6.1.).



Şekil 4.6.1. *Helicobacter* Genus spesifik PCR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel görüntüsü **M:** Marker (100-3000 bp) DNA Ladder (Thermo Scientific, USA), **1-5:** Ağız fırça örnekleri (**780 bp**), **P:** Pozitif kontrol, *H. pylori* ATCC 700824 standart suş (**780 bp**) **N:** Negatif kontrol (steril distile su).

Sahipsiz köpeklerden toplanan ağız fırça örneklerinin (n=88) *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. yönünden kültürel ve moleküler yöntem ile araştırılmasının sonuçları Şekil 4.6.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.6.2. Köpek ağız fırça örneklerinin (n=88) ilgili mikroorganizmalar yönünden kültürel ve moleküler yöntem ile araştırılmasının sonuçları

4.7. İstatistiksel Bulgular

İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 21,0 (IBM Corp. Armonk, New York, USA) paket programı kullanıldı. İki kategorili olan iki isimsel ölçekle ölçülebilen rassal değişken arasındaki bağımsızlık veya bağımlılık ilişkisinin incelenmesi için kullanılan Pearson'un ki kare testi, çalışmada ele alınan her bir grup için ayrı ayrı yapıldı (Tablo 4.2.). Verilerin normal dağılımına uygunluğu iki değişken arasında bir ilişkinin olup-olmadığı, eğer bir ilişki var ise bu ilişkinin zayıf, orta veya güçlü olup olmadığını belirtmek amacıyla çapraz tablo analizi yapıldı (Tablo 4.3.). Grupların parametre değerleri arasındaki ilişki incelendi. Anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ olarak dikkate alındı. Gruplar arasında ortalama kültürel yoklama ve moleküler identifikasyon açısından *Campylobacter* ve *Helicobacter* tespiti için istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark tespit edildi ($P < 0.05$). *Arcobacter* tespiti için istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark tespit edilemedi ($P > 0.05$).

Tablo 4.2. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin analiz sonuçlarının ki-kare testleri

		Değer	Serbestlik derecesi (df)	Asimptotik önem (iki taraflı)	Kesin Anlam (iki taraflı)	Kesin Anlam (bir taraflı)
<i>Arcobacter</i> spp.	Pearson Ki-Kare	4,093 ^a	1	,043		
	Düzeltilmeli Ki-Kare ^b	2,302	1	,129		
	Olabilirlik oranı	5,638	1	,018		
	Fisher Kesin Olasılık Testi				,121	,060
	Doğrusal bağlantı	4,070	1	,044		
	Geçerli olguların sayısı	176				
a. Sıfır hücre (%50,0) 5'ten az beklenen sayıya sahiptir. Beklenen minimum sayı 2,0 b. Yalnızca 2x2 tablo için hesaplanmıştır.						
		Değer	Serbestlik derecesi (df)	Asimptotik önem (iki taraflı)	Kesin Anlam (iki taraflı)	Kesin Anlam (bir taraflı)
<i>Campylobacter</i> spp.	Pearson Ki-Kare	96,634 ^a	1	,000		
	Düzeltilmeli Ki-Kare ^b	93,684	1	,000		
	Olabilirlik oranı	108,894	1	,000		
	Fisher Kesin Olasılık Testi				,000	,000
	Doğrusal bağlantı	96,085	1	,000		
	Geçerli olguların sayısı	176				
a. Sıfır hücre (%0,0) 5'ten az beklenen sayıya sahiptir. Beklenen minimum sayı 40,50 b. Yalnızca 2x2 tablo için hesaplanmıştır.						
		Değer	Serbestlik derecesi (df)	Asimptotik önem (iki taraflı)	Kesin Anlam (iki taraflı)	Kesin Anlam (bir taraflı)
<i>Helicobacter</i> spp.	Pearson Ki-Kare	36,164 ^a	1	,000		
	Düzeltilmeli Ki-Kare ^b	33,794	1	,000		
	Olabilirlik oranı	47,797	1	,000		
	Fisher Kesin Olasılık Testi				,000	,000
	Doğrusal bağlantı	35,959	1	,000		
	Geçerli olguların sayısı	176				
a. Sıfır hücre (%0,0) 5'ten az beklenen sayıya sahiptir. Beklenen minimum sayı 15,00 b. Yalnızca 2x2 tablo için hesaplanmıştır.						

Tablo 4.3. *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin kültürel yoklama ve moleküler identifikasyon sonuçlarının çapraz tablo analizi

		Kültürel yoklama	Moleküler identifikasyon	Toplam	
<i>Arcobacter</i> spp.	Var	Bulunan değer	0	4	4
		Beklenen değer	2,0	2,0	4,0
	Yok	Bulunan değer	88	84	172
		Beklenen değer	86,0	86,0	172,0
<i>Campylobacter</i> spp.	Var	Bulunan değer	15	80	95
		Beklenen değer	47,5	47,5	95,0
	Yok	Bulunan değer	73	8	81
		Bulunan değer	40,5	40,5	81,0
<i>Helicobacter</i> spp.	Var	Bulunan değer	0	30	30
		Beklenen değer	15,0	15,0	30
	Yok	Bulunan değer	88	58	146
		Beklenen değer	73,0	73,0	146,0
Toplam		Bulunan değer	88	88	176
		Beklenen değer	88,0	88,0	176,0

5. TARTIŞMA

İnsanların son yıllarda evcil hayvan edinme alışkanlıkları ve bunun sonucunda aynı yaşam alanını paylaşmaları ve olası fiziksel temas ile hayvanlardaki mikroorganizmaların insanlara bulaşması ve enfeksiyon oluşturmaları halk sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu kapsamda, köpek ağız mikrobiyotasında *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin varlığına ilişkin çeşitli coğrafyalarda yapılan çalışmalar ve elde edilen bilgiler sınırlıdır. Yapılan bu tez çalışmasında, sahihsiz köpeklerin ağız mikrobiyotasında *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'nin varlığı kültürel ve moleküler analizler ile ortaya konulmuş ve konunun halk sağlığı açısından oluşturabileceği risk değerlendirilmiştir.

Köpeklerin ağız boşluğunda *Arcobacter* spp.'nin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde; mevcut bilgilerimize göre, yurdumuzda yürütülmüş herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Petersen ve ark. (2007), köpeklerden toplamış oldukları toplam 145 salya örneklerinden PCR-DGGE yöntemi ile *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* pozitifliği sırasıyla %3 ve %2 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Houf ve ark. (2008), 267 köpekten topladıkları ağız svap örneklerinde *Arcobacter* spp. pozitifliğini mPCR yöntemi ile %0.7 olarak rapor etmişlerdir. Pejchalova ve ark. (2016), 108 köpekten aldıkları ağız svap örneklerinde *Arcobacter* spp. varlığını moleküler yöntem (PCR) ile araştırmışlar ve araştırmacılar, 108 ağız svap örneğinin 4 (%3.7)'ünde *A. butzleri* identifiye etmişlerdir.

Goni ve ark. (2016), 40 pet ve 61 sokak köpeği olmak üzere toplam 101 köpeğin ağız boşluğundan alınan svapları, *Arcobacter* spp. yönünden kültürel ve moleküler yöntem ile araştırmışlar ve çalışmada ön zenginleştirmeyi takiben membran filtrasyon yönteminden yararlanmışlardır. Araştırmacılar, sahipli 40 köpeğin 14 (%35)'ünde ve 61 sokak köpeğinin ise 17 (%27.9)'sinde *Arcobacter* spp. yönünden pozitif olarak saptamışlardır. Oba ve ark. (2021a), 26 sağlıklı köpekten aldıkları tükürük örneklerinde yeni nesil dizileme yöntemi kullanarak *Arcobacter* spp. pozitifliğini %2.8 olarak saptamışlardır.

Kačirová ve ark. (2019), aynı evde yaşayan 5 küçük ırk köpekten almış oldukları dental plak örneklerinden PCR yöntemi ile yalnızca bir köpekte *Arcobacter* spp. pozitifliği saptamışlardır. Yine, Kačirová ve ark. (2021), 5 küçük ırk köpekten alınan dental plak örneklerinde 16S rRNA gen dizilemesi ile *Arcobacter* spp. pozitifliğini %1.82 olarak saptamışlardır. Oba ve ark. (2022), kuru ve yaş mama ile beslenen köpeklerde ağız mikrobiyotasındaki farklılıkları araştırmışlardır. Altı hafta boyunca kuru mama ve yaş mama ile beslenen 12 köpekten, sürenin sonunda supragingival ve subgingival plak örneklerinde moleküler yöntemle *Arcobacter* spp. pozitifliğini sırasıyla, %1.77 ve %0.09 olarak rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda 88 sahihsiz köpeğe ait ağız boşluğundan alınan fırça örneklerinden kültürel yöntem ile *Arcobacter* spp. izolasyonu yapılamamıştır. Ancak, moleküler yöntem ile *Arcobacter* spp. pozitifliği %4.5 olarak saptanmıştır. Bu pozitif örneklerin 3'ü *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar, köpeklerin ağız mikrobiyotasında Arkobakterlerin varlığına ilişkin yürütülen çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Köpeklerin ağız boşluğunda *Campylobacter* spp.'nin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalarda elde edilen *Campylobacter* türleri ve pozitiflik oranları değişiklik göstermektedir. Nitekim, Petersen ve ark. (2007), köpeklerden toplamış oldukları 145 adet salya örneklerinden PCR-DGGE yöntemi ile *C. concisus*, *C. rectus*, *C. showae* ve *C. lari* pozitifliği sırasıyla, %2, %1.5, %1.5 ve %3 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Yamasaki ve ark. (2012), köpeklerden (n=66) ve sahiplerinden (n=81) topladıkları ağız svap örneklerinde PCR ile *C. rectus* pozitifliğini sırasıyla %66.7 ve %21 olarak saptamışlardır. Özavcı ve ark. (2019), 51 köpekten aldıkları dental plak smear örneklerinden 5'inde PCR ile *C. rectus* tanımlanmıştır. Yine, Özavcı (2022), 52

Pitbull ırkı köpekten plak ve subgingival svap örnekleri almış olup, PCR yöntemi ile araştırmıştır. Araştırmacı, 52 köpekten 1 (%1.9)'inde *C. rectus* pozitifliği saptadığını bildirmiştir. Oba ve ark. (2021b), 26 sağlıklı köpekten aldıkları tükürük örneklerinde yeni nesil dizileme yöntemi kullanarak *Campylobacter* spp. pozitifliğini %2.5 olarak saptamışlardır. Niemiec ve ark. (2022), sağlıklı 12 ve periodontal enfeksiyona sahip 39 köpekten maxillar diş smear örnekleri alıp, yeni nesil DNA dizileme yöntemiyle *Campylobacter* spp. varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar smear örneklerinde *Campylobacter* spp. pozitifliğini %94 olarak bildirmişlerdir.

Yine, Kato ve ark. (2011), köpeklerde periodontitis ile ilişkili olan mikroorganizmaları araştırmak için, 26 köpekten ağız svap örneği toplamışlardır. Çalışmada alınan svap örneklerinde, PCR yöntemiyle *Campylobacter rectus* pozitifliğini %92 olarak rapor etmişlerdir. Hirai ve ark. (2013), farklı yaş gruplarından (genç, orta ve yaşlı) toplamda 176 köpeğe ait diş plak örnekleri almışlar ve PCR yöntemi ile araştırmışlardır. İdentifiye edilen *Campylobacter rectus*'un orta ve yaşlı köpeklerde (~%90 ve ~%85) genç köpeklere (~%70) göre yüksek oranda olduğunu rapor etmişlerdir. Kačirová ve ark. (2021), 5 küçük ırk köpekten alınan dental plak örneklerinde 16S rRNA gen dizilemesi ile *Campylobacter* spp. pozitifliğini %1.82 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda, *Campylobacter* spp. için yapılan kültürel yoklamada, analiz edilen 88 ağız fırça örneğinden 15 (%17)'i, *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu ve bu pozitif örneklerden toplam 19 *Campylobacter* spp. izole edildi. Elde edilen 19 *Campylobacter* spp. izolatu tür düzeyinde identifiye edilemedi. Moleküler analiz sonucunda ise, analiz edilen örneklerin 80 (%90)'i genus spesifik PCR yöntemi sonucunda pozitif olarak saptandı, ancak tür düzeyinde bir tanımlama yapılamadı. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, yukarıdaki çalışmaların kültürel ve moleküler analiz sonuçlarına benzerlik göstermesine karşın, moleküler analizde elde ettiğimiz pozitiflik oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun, örnek alınan sahihsiz köpeklerin beslenme şekilleri ve barınma koşulları gibi faktörlerden ileri gelebileceğini düşündürmektedir.

Köpeklerin ağız boşluğunda *Helicobacter* spp.'nin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde; yurdumuzda herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dünyada yapılan çalışmalarda ise, Jankowski ve ark. (2016), gastritisli köpekten (n=30) topladıkları salya örneklerinde nested-PCR yöntemi ile 23 (76.6%)'ünde *Helicobacter* spp. pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Nowroozilarki ve ark. (2017), 31 sağlıklı

ve 31 periodontitisli köpeklerden salya örnekleri toplanmış ve PCR ile araştırılmıştır. Toplanan örneklerden sırasıyla 16 (%51.6) ve 26 (%83.8)'sında *Helicobacter* spp. pozitifliği saptanmıştır. Sağlıklı köpeklerin salya örneklerinden 9 (%29) ve periodontitisli köpeklerin salya örneklerinden 10 (%32.2)'unda *H. heilmannii* pozitifliği saptanmıştır. *H. felis* ise yalnız periodontitisli gruptan 3 (%9.6)'ünde saptanmıştır. Toplanan örneklerde *H. pylori* saptayamamışlardır.

Recordati ve ark (2007), 38 köpekten tükürük ve ağız svap örneği almış ve PCR ile araştırmışlardır. *Helicobacter* spp. pozitifliğini sırasıyla %50 ve %71.1 oranında saptadıklarını bildirmişlerdir. Ha ve ark. (2008), köpeklerden almış oldukları 150 salya ve 3 dental plak örneklerinde PCR yöntemi ile *Helicobacter* spp. pozitifliğini sırasıyla %23 ve %33 olarak saptamışlardır. Craven ve ark. (2011), 28 köpekten ağız svap örneği toplamış ve PCR yöntemi ile *Helicobacter* spp. pozitifliğini %50 olarak rapor etmişlerdir. Segundo ve ark. (2021), 35 köpekten toplamış oldukları tükürük örneklerinde PCR ile *Helicobacter* spp. pozitifliğini %25.7 olarak saptamışlardır. Jahansihiri ve ark. (2022), köpeklerin ağız mikrobiyotasında *Helicobacter* spp.'nin prevalansını araştırmak amacıyla, 62 köpeğin ağız boşluğundan steril fırça yardımıyla örnekler almış ve PCR yöntemiyle araştırmışlardır. Fırça örneklerinin %50.06'sının, *Helicobacter* spp. yönünden pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 88 köpeğin ağız boşluğundan alınan fırça örneklerinden kültürel yöntem ile *Helicobacter* spp. izolasyonu yapılamamıştır. Moleküler yöntemi ile *Helicobacter* spp. pozitifliği ise %34 olarak saptanmıştır. Helikobakterler, son derece hassas mikroorganizmalar olup, kültürel yoklamada izolasyon şansı oldukça düşüktür. Buna karşın, bunların varlığının moleküler yöntemle saptanmasına yönelik çalışmalarda ise prevalansın %25.7 ile %83.8 arasında değiştiği görülmektedir. Mevcut tez çalışmasında elde ettiğimiz *Helicobacter* genusuna ait moleküler analiz sonuçları yukarıdaki araştırmalarla paralellik göstermektedir ve benzer değerler arasında yer almaktadır.

Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz *Arcobacter* spp., *Campylobacter* spp. ve *Helicobacter* spp.'ye ait pozitiflik oranlarının halk sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Keza *Arcobacter* spp. insan gastrointestinal infeksiyonlarından izole edilen bir mikroorganizmadır (Uljanovas ve ark., 2023). Benzer durum *Campylobacter* spp. için de geçerlidir. Tüm dünyada *C. jejuni* başta olmak üzere *Campylobacter* spp. insan gastroenteritis olgularının önemli bir etiyolojik etkenidir (Zhang ve ark., 2020).

Yine tez çalışmasında moleküler yöntem ile *Helicobacter* spp. pozitiflik yüksek oranda saptanmış olup, tür düzeyinde identifikasyonun yapılması önem arz edecektir. Bu yüzden daha fazla örnekle mikrobiyom analizini de içeren araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* genusuna ait mikroorganizmaların ağız boşluğundan kültüre edilebilmesi için belli düzeyde sayıya ihtiyaç duyulmaktadır ve bu sayı, hayvanın beslenmesi, ağız hijyeni, barındırılma koşulları, antibiyotik kullanımı, stres faktörleri, iklim, coğrafya vb. faktörlerden etkilenmektedir.

Evcil hayvanların beslenmesinde, daha fazla öğütme ve çiğneme gerektiren sert gıdalar (formüle edilmiş kuru mamalar) ya da yumuşak gıdaların kullanılması hayvanın ağız hijyeni ve sağlığı ile doğrudan ilişkili olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Kuru mama ile beslenen köpeklerde gingivitis, periodontal plak, halitosis gibi ağız ve diş infeksiyonlarının önlenmesi belirtilmiştir. Diyet değişiklikleri, ağız hastalıklarının klinik bulgularında iyileştirme ve hastalıkların önlenmesinde etkin potansiyele sahiptir. (Kocabağlı ve ark., 2019).

Köpeklerin ağız boşluğunda görülen hastalıkların tedavisinin asıl amacı, oral mikrobiotanın konakçı bağışıklık sistemi ile homeostazın yeniden oluşturulmasıdır. Ancak, oral mikrobiyal değişimlere ağız dezenfeksiyonlarının veya sistemik antibiyotiklerin kullanımlarından sonra rastlanılmaktadır (Beikler ve ark., 2021). Köpeklerde sistemik infeksiyonların önlenmesinde ağız sağlığına yönelik ilaçlar da kullanılmaktadır. Ağız boşluğu çeşitli mikrobiyal türler için bir yaşam alanıdır. Çeşitli faktörler (gıda maddeleri, bakım koşulları, antibiyotik kullanımı ve ağız bakımı) mikrobiyal popülasyonun floranın ve hayvanın bağışıklığını etkilemektedir (Thongma ve ark.,2023). Köpek ağız boşluğu mikrobiyotası karmaşık ve oldukça çeşitli bir ortam olarak bilinmektedir. Bu ekosistem içinde, oral mikrobiyota köpeğin ağız sağlığının durumu da dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir.

Mikrobiyotanın değerlendirilmesi için, ağız sağlığı, ağız hastalıkları ve tedavide kullanılan antimikrobiyal ajanların ve kullanım sürelerinin bilinmesi gerekmektedir (Cunha ve ark.,2021). Farklı ülkelerdeki sokak köpeklerinin ağız boşluğundan elde edilen örneklerin analizinde belirli mikroorganizmaların daha yoğun olarak bulunması, coğrafi konumların köpek ağız mikrobiyotasında önemli ölçüde farklılıklara neden olabileceğinin bir sonucudur. Ayrıca, köpeklerin genel sağlık durumu ve yaşının ağız mikrobiyotasına olan etkisi araştırılmış, ilerleyen yaşla birlikte bakteriyel yükün artışına

bağlı olarak, gingivit, periodontal plak oluşumu gibi çeşitli ağız boşluğu hastalıklarının görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir (Wallis ve ark., 2021).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yozgat ilinde bulunan geçici hayvan barınağında 88 köpekten alınan ağız fırçaörneklerinin kültürel yoklaması sonucunda, örneklerin 15 (%17)'inde *Campylobacter* spp. izolasyonu yapılırken, *Arcobacter* spp. ve *Helicobacter* spp. izole edilemedi. Alınan örneklerin PCR ile analizi sonucunda, 3'ü *A. butzleri* ve 1'i *Arcobacter* spp. olmak üzere örneklerin toplam 4 (%4.5)'ünde *Arcobacter* spp., 80 (%90)'inde *Campylobacter* spp. ve 30 (%34)'unda *Helicobacter* spp. pozitifliği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, bu tez çalışmasında sahihsiz köpekler ile olası fiziksel temas yoluyla insanlara bulaşabilen *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* türlerinin köpek ağız mikrobiyotasındaki varlığı ile halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturduğu öngörülmüştür. İnsanlarla ortak yaşam alanlarına sahip köpeklerde *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Helicobacter* türlerinin çeşitli floral ortamlardan araştırılması ile ilgili daha fazla çalışmanın yapılmasının gerekliliği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Abay S, Kayman T, Hızlısoy H, Aydın F. In vitro antibacterial susceptibility of *Arcobacter* butzleri isolated from different sources. J Vet Med Sci, 2011; 74(5): 613-616.
- Abay S, Yaman A, Karakaya E, Aydın F. Prevalence and antibacterial susceptibilities of *Arcobacter* spp. and *Campylobacter* spp. from fresh vegetables. World J Microbiol Biotechnol, 2022; 38: 132.
- Acke E. Campylobacteriosis in dogs and cats: a review. N Z Vet J, 2018; 66(5):221-228.
- Almashhadany DA, Mayas SM, Mohammed HI, Hassan AA, Khan IUH. Population- and gender-based investigation for prevalence of *Helicobacter pylori* in Dhamar, Yemen. Can J Gastroenterol Hepatol, 2023; 10.
- Al-Soud WA, Bennedsen M, On SL, Ouis IS, Vandamme P, Nilsson HO, Ljungh A, Wadström T. Assessment of PCR-DGGE for the identification of diverse *Helicobacter* species, and application to faecal samples from zoo animals to determine *Helicobacter* prevalence. J Med Microbiol, 2003; 52: 765-71.
- Anđ Ö, Özgür Y. Veteriner Hekimlik Bakteriyolojisi, Kıvrımlı ve Sarmal Bakteriler, *Campylobacter*, *Helicobacter* ve *Arcobacter* cinsleri. Veteriner Hekimlik Mikrobiyolojisi-Hayvan Hastalığı Etkeni Olan Bakteriler ve Mantarlar. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. Hadımköy-İstanbul, 2012; s.: 223-232.
- Ansarifar E, Riahi SM, Tasara T, Sadighara P, Zeinali T. *Campylobacter* prevalence from food, animals, human and environmental samples in Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Microbiol, 2023; 23: 126.
- Arda M. Temel Mikrobiyoloji (Dördüncü baskı). Medisan Yayınevi, Ankara, 2011; p.: 266-312.
- Aydın F, Gümüşsoy KS, Atabay HI, İça T, Abay S. Prevalence and distribution of *Arcobacter* species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. J Appl Microbiol, 2007; 103: 27-35.
- Aydın F, Yağız A, Abay S, Müştak HK, Diker SK. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* in beef meat samples and characterization of the recovered isolates. J Consum Prot Food S, 2020; 15: 15–25.

- Aydin F, Abay M, Şahin O, Abay S, Karakaya E, Müştak İB, Mütak HG, Gümüşsoy KS, Kayman T. Species distribution, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates recovered from the preputial cavity of healthy rams in Turkey. *J Appl Microbiol*, 2020; 129: 1173-1184.
- Aydin F, Abay S, Kayman T, Karakaya E, Mustak HK, Mustak IB, Bilgen N, Goncuoglu M, Duzler A, Guran Ö, Sahin O, Saticioglu İB. *Campylobacter anatolicus* sp. nov., a novel member of the genus *Campylobacter* isolated from feces of Anatolian Ground Squirrel (*Spermophilus xanthopyrmnus*) in Turkey. *Syst Appl Microbiol*, 2021; 44: 126265.
- Aydin F, Saticioglu İB, Ay H, Kayman T, Karakaya E, Abay S. Description of the two novel species of the genus *Helicobacter*: *Helicobacter anatolicus* sp. nov., and *Helicobacter kayseriensis* sp. nov., isolated from feces of urban wild birds. *Syst Appl Microbiol*, 2022; 45: 123326.
- Beikler T, Bunte K, Chan Y, Weiher B, Selbach S, Peters U, Klocke A, Watt RM, Flemmig TF. Oral microbiota transplant in dogs with naturally occurring periodontitis. *J Dent Res*, 2021; 100(7): 764–770.
- Binder R, Hahn A, Eberhardt KA, Hagen RM, Rohde H, Loderstädt U, Feldt T, Sarfo FS, Di Cristanziano V, Kahlfuss S, Frickmann H, Zautner AE. Comparison of the diagnostic accuracy of three real-time PCR assays for the detection of *Arcobacter butzleri* in human stool samples targeting different genes in a test comparison without a reference standard. *Microorganisms*, 2023; 11: 1313.
- Blasio A, Traversa A, Giacometti F, Chiesa F, Piva S, Decastelli L, Dondo A, Gallina S, Zoppi S. Isolation of *Arcobacter* species and other neglected opportunistic agents from aborted bovine and caprine fetuses. *BMC Vet Res*, 2019; 15: 257.
- Bobade S, Vijayarani K, Tirumurugaan KG, Thangavelu A, Vairamuthu S. Phenotypic and genotypic characterization of *Campylobacter jejuni* from fecal sample of dog suffer from diarrhea. *J Entomol Zool Stud*, 2020; 8(2): 1357-1360.
- Branysova T, Limpouch O, Durovic M, Demnerova K, Stiborova H. Bacterial diversity on historical audio-visual materials and in the atmosphere of Czech depositories. *Microbiol Spectr*, 2023; 11(4): 1176-23.
- Brückner V, Fiebiger U, Ignatius R, Friesen J, Eisenblätter M, Höck M, Alter T, Bereswill S, Heimesaat MM, Gölz G. Characterization of *Arcobacter* strains isolated from human stool samples: results from the prospective German prevalence study Arcopath. *Gut Pathog*, 2020; 12: 3.
- Butzler JP. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect*, 2004; 10: 868–876.
- Cheok YY, Lee CYQ, Cheong HC, Vadivelu J, Looi CY, Abdullah S, Wong WF. An overview of *Helicobacter pylori* survival tactics in the hostile human stomach environment. *Microorganisms*, 2021;(9): 2502.

- Chon JW, Hyeon JY, Choi IS, Park CK, Kim SK, Heo S, Oh SW, Song KY, Seo KH. Comparison of three selective media and validation of the *vidas Campylobacter* assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in ground beef and fresh-cut vegetables. *J Food Prot*, 2011; 74(3): 456-460.
- Cunha E, Valente S, Nascimento M, Pereira M, Tavares L, Dias R, Oliveira M. Influence of the dental topical application of a nisin-biogel in the oral microbiome of dogs: a pilot study. *PeerJ*, 2021; 9: e11626.
- Collado L, Figueras MJ. Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. *Clin Microbiol Rev*, 2011; 174–192.
- Craven M, Recordati C, Gualdi V, Pengo G, Luini M, Scanziani E, Simpson KW. Evaluation of the Helicobacteraceae in the oral cavity of dogs. *AJVR*, 2011; 72(11): 1476-1481.
- Çelik E, Otlu S. Isolation of *Arcobacter* spp. and identification of isolates by multiplex PCR from various domestic poultry and wild avian species. *Ann Microbiol*, 2020; 70: 60.
- El Baaboua A, El Maadoudi M, Bouyahya A, Kounnoun A, Bougtaib H, Omar B, Boujida N, Abrini J. A review of current knowledge and gaps about *Campylobacter* methods: from culture to characterization. *J Microbiol Biotech Food Sci*, 2022; 11(4): 4154.
- El-Naenaey EY, Abd El-Aziz NK, Sewid AH, Hashem A. *Campylobacter* species in poultry: virulence attributes, pathogenesis, epidemiological typing and zoonotic importance. *Zag Vet J*, 2022; 50(1): 1-18.
- Elyasi B, Rezaie A, Bakhtiari NM, Mosallanejad B. *Helicobacter* genus in the intestine and liver of stray cats: the molecular, histopathological, and immunohistochemical study. *Braz J Microbiol*, 2020.
- Epps SVR, Harvey RB, Hume ME, Phillips TD, Anderson RC, Nisbet DJ. Foodborne *Campylobacter*: Infections, Metabolism, Pathogenesis and Reservoirs. *Int J Environ Res Public Health*, 2013; 10: 6292-6304.
- Fera MT, Camera E, Carbone M, Malara D and Pennis MG. Pet cats as carriers of *Arcobacter* spp. in Southern Italy. *J Appl Microbiol*, 2009; 106: 1661–1666.
- Ferreira S, Queiroz J, Oleastro M, Domingues F. Insights in the pathogenesis and resistance of *Arcobacter*: A review. *Crit Rev Microbiol*, 2015; Early Online: 1–20.
- Fiorani, M.; Tohumcu, E.; Del Vecchio, L.E.; Porcari, S.; Cammarota, G.; Gasbarrini, A.; Ianiro, G. The influence of *Helicobacter pylori* on human gastric and gut microbiota. *Antibiotics*, 2023; 12: 765.
- Fox JG, 2012. Enteric Bacterial Infections, Gastric *Helicobacter* Infections, 374-375. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Fourth Edition. Elsevier Saunders, United States of America.
- Gabucci C, Baldelli G, Amagliani G, Schiavano GF, Savelli D, Russo I, Di Lullo S, Blasi G, Napoleoni M, Leoni F, Primavilla S, Massacci FR, Garofolo G, Petruzzelli A. Widespread multidrug resistance of *Arcobacter butzleri* isolated from clinical and food sources in central Italy. *Antibiotics*, 2023; 12: 1292.

- Gariyban L, Avashia N. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Invest Dermatol*, 2013; 133(3): e6.
- Gharajalara SN, Hassanzadeh P, Nejad NH. Molecular detection of *Campylobacter* species and Cytolethal distending toxin isolated from chicken livers in Tabriz. *Comp. Immunol Microbiol Infect Dis*, 2020; 71: 101474.
- Goni DM, Abdulaziz S, Dhaliwa GK, Zakaria Z, Muhammad IJ, Mohamed MA, Bello AA, Bitrus AA. Occurrence of *Arcobacter* in dogs and cats in Selangor, Malaysia, and associated risk factors. *Turk J Vet Anim Sci*, 2016; 40: 769-775.
- Goni MD, Muhammad IJ, GojeM, Bitrus AA, Jajere SM, Adam BM, Abbas MA. Occurrence of emerging *Arcobacter* in dogs and cats and its public health implications: A Review. *Adv Anim Vet Sci*, 2017; 5(9): 362-370.
- Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, PetersLM, Collins LMD, Sly L, Mcconnell W, Harper WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. Respectively. *Int J Syst Bacteriol*, 1989; 397-405.
- Ha SW, Yoo JH, Chung TH, Jung WS, Youn HY, Chae JS, Hwang CY. PCR based detection of *Helicobacter* spp. in saliva, dental plaque, vomitus and feces of dogs. *J Vet Clin*, 2008; 25(6) : 447-451.
- Haamadi AA, Risan MH, AboAlmaali HM, Sayah HA, Abbas AH. Detection *H. pylori* infection by BabA gene from clinical isolate in Karbala City, Iraq. *Sci J Med Res*, 2021; 5(17): 29- 35.
- Harmon KM, Wesley IV. Identification of *Arcobacter* isolates by PCR. *Lett Appl Microbiol*, 1996; 23: 241-244.
- Hirai N, Shirai M, Kato Y, Murakami M, Nomura R, Yamasaki Y, Takahashi S, Kondo C, Matsumoto-Nakano M, Nakano K, Asai F. Correlation of age with distribution of periodontitis-related bacteria in Japanese dogs. *J Vet Med Sci*, 2013; 75(7): 999–1001.
- Houf K, De Smet S, Bare J, Daminet S. Dogs as carriers of the emerging pathogen *Arcobacter*. *Vet Microbiol*, 2008; 130: 208–213.
- Houf K, Tutenel A, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. *FEMS Microbiol Lett*, 2000; 193(1): 89-94.
- Huang H, and Garcia MM. In: Tellez-Isaias G, El-Ashram S (eds.), Isolation and Identification of *Campylobacter* species from Food and Food-Related Environment. *Campylobacter*, Rijeka 2022; s.: 1-30.
- Huang Y, Ding Y, Xu H, Shen C, Chen X, Li C. Effects of sodium butyrate supplementation on inflammation, gut microbiota, and short-chain fatty acids in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Helicobacter*, 2021; (26): 12785.
- Hwang MA, Ederer GM. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group b *Streptococci*. *J Clin Microbiol*, 1975; 114-115.

- Isidro J, Ferreira S, Pinto M, Domingues F, Oleastro M, Gomes JP, Borges V. Virulence and antibiotic resistance plasticity of *Arcobacter butzleri*: Insights on the genomic diversity of an emerging human pathogen. *Infect Genet Evol*, 2020; 80: 104213.
- Jahanshiri Z, Nayeri-Fasaei B, Jamshidi S, Zahraei-Salehi T. Identification and prevalence of *Helicobacter pylori* virulence genes Baba and Caga in *Wolinella* isolates from the oral cavity of dogs. *Preprints*, 2022; 2022090283.
- Jankowski M, Spuzak J, Kubiak K, Glińska-Suchocka K, Biernat M. Detection of *Helicobacter* spp. in the saliva of dogs with gastritis. *J Consum Prot Food S*, 2016; 19(1): 133–140.
- Jasim SA, Al-abodi HR, Ali WS. Resistance rate and novel virulence factor determinants of *Arcobacter* spp., from cattle fresh meat products from Iraq. *Microb Pathog*, 2020; 152: 104649.
- Jiménez-Guerra G, Moreno-Torres IC, Moldovan TD, Navarro-Mari JM, Gutiérrez-Fernández J. *Arcobacter butzleri* and intestinal colonization. *Rev Esp Quimioter*, 2020; 33(1): 73-75.
- Kabaya H, Maruyama S, Morita Y, Ohsuga T, Ozawa S, Kobayashi Y, Abe M, Katsube Y, Mikami T. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. *Int J Food Microbiol*, 2004; 90: 303–308.
- Kačirová J, Mađari A, Mucha R, Stašková A, Nemcová R, Mađar M. Identification of the cultivable autochthonous microbiota of the canine dental plaque. *International Conference "Animal Physiology, Nutrition and Welfare". Faculty of Agriculture, University of South Bohemia, České Budějovice 2019; s.: 129-135.*
- Kačirová J, Mađari A, Mucha R, Fecskeová LK, Mujakic I, Koblížek M, Nemcová R, & Mađar M. Study of microbiocenosis of canine dental biofilms. *Sci Rep*, 2021; 11: 19776.
- Kahya S, BuyukcangazE, Carlı KT. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 2013; 32(1): 31-38.
- Kakuta R, Hidaka H, Yano H, Okamoto M, Ozawa D, Endo S, Kaku M, Katori Y. First report of severe acute otitis media caused by *Campylobacter rectus* and review of the literature. *J Infect Chemother*, 2016; 22: 800-803.
- Kato Y, Shirai M, Murakami M, Mizusawa T, Hagimoto A, Wada K, Nomura R, Nakano K, Ooshima T, Asai F. Molecular detection of human periodontal pathogens in oral swab specimens from dogs in Japan. *J Vet Dent*, 2011; 28(2): 84-89.
- Kayman T, Abay S, Aydın F, Şahin O. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolates recovered from humans with diarrhoea in Turkey. *J Med Microbiol*, 2019; 68: 136–14.
- Kayman T. *Arcobacter* Cinsi: Genel Özellikleri, Epidemiyoloji ve Laboratuvar Tanısı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2012; 42(2): 43-50.
- Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 449–490.

- Lameei A, Rahimi E, Shakerian A, Momtaz H. Genotyping, antibiotic resistance and prevalence of *Arcobacter* species in milk and dairy products. *Vet Med Sci*, 2022; 8: 1841–1849.
- Lee JH, Park J, Park MR, Na YH, Cho SJ. A Comparative study of *Helicobacter pylori* growth on different agar-based media. *Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res*, 2017; 17(4): 208-212.
- Linton D, Owen RJ, Stanley J. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and offive *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals. *Res Microbiol*, 1996; 147: 707–718.
- LPSN 1: <https://lpsn.dsmz.de/family/arcobacteraceae> , Erişim Tarihi: 13.09.2023
- LPSN 2: <https://lpsn.dsmz.de/genus/arcobacter> , Erişim Tarihi: 13.09.2023
- LPSN 3: <https://lpsn.dsmz.de/genus/campylobacter> , Erişim Tarihi: 14.09.2023
- LPSN 4: <https://lpsn.dsmz.de/genus/helicobacter> , Erişim Tarihi: 14.09.2023
- Ma Y, Ju C, Zhou G, Yu M, Chen H, He J, Zhang M and Duan Y. Genetic characteristics, antimicrobial resistance, and prevalence of *Arcobacter* spp. isolated from various sources in Shenzhen, China. *Front Microbiol*, 2022; 13: 1004224.
- Meining A, Kroher G, Stolte M. Animal reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii*. Results of a questionnaire-based study. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 795–798.
- Melo J, Pinto V, Fernandes T, Malheiro AR, Osório H, Figueiredo C, Leite M. Isolation method and characterization of outer membranes vesicles of *Helicobacter pylori* grown in a chemically defined medium. *Front Microbiol*, 202; 12: 654193.
- Mohan V, Stevenson MA, Marshall JC, French NP. Characterisation by multilocus sequence and porA and flaA typing of *Campylobacter jejuni* isolated from samples of dog faeces collected in one city in New Zealand. *N Z Vet J*, 2017; 65(4): 209–213.
- Moussa IM, Eljakee J, Beder M, Abdelaziz K, Mubarak AS, Dawoud TM, Hemeg HA, Alsubki RA, Kabli SA, Marouf S. Zoonotic risk and public health hazards of companion animals in the transmission of *Helicobacter* species. *J King Saud Univ Sci*, 2021; 33: 101494.
- Mulder Ac, Franz E, De Rijka S, Versluis MAJ, Coipana C, Buij R, Müskens G, Koene M, Pijnacker R, Duim B, Van Der Graaf-Van Bloois L, Veldmand K, Wagenaar JA, Zomer AL, Schets FM, Hetty Blaaka, Mughini-Gras L. Tracing the animal sources of surface water contamination with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Water Res*, 2020; 187: 116421.
- Nand AK. The Detection of Food Borne Pathogen *Campylobacter jejuni* (Theodor 1886) in Broiler Carcasses. Master Thesis, School of Chemical and Biological Science, Technology and Environment the University of South Pacific, Fiji 2018.
- Nazir I, Mahmood HZ, Mustafa SE. Polymerase chain reaction: a creative review. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 2020; 7(4): 157–159.

- Ngulukun SS. Taxonomy and physiological characteristics of *Campylobacter* spp.. In: Günter Klein, *Campylobacter* features detection, and prevention of foodborne disease. Elsevier, Hannover 2017; 41-60.
- Nguyen PT, Tuz K, Juárez O, Restaino L. Comparison of two culture-based detection systems for the isolation of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* in raw ground poultry. *J Food Prot*, 2023; 86: 100057.
- Niemiec BA, Gawor J, Tang S, Prem A, Krumbeck JA. The bacteriome of the oral cavity in healthy dogs and dogs with periodontal disease. *AJVR*, 2022; 83(1): 50-58.
- Nowroozilarki N, Jamshidi S, Salehi TZ, Kolahian S. Identification of *Helicobacter* and *Wolinella* spp. in Oral Cavity of Toy Breed Dogs With Periodontal Disease. *Topics in Companion An Med*, 2017; 32: 96–99.
- Oba PM, Sieja KM, Keating SCJ, Hristova T, Somrak AJ, Swanson KS. Oral microbiota populations of adult dogs consuming wet or dry foods. *Anim Sci J*, 2022; 100: 1-12.
- Oba PM, Carroll MQ, Alexander C, Somrak AJ, Keating SCJ, Sage AM, Swanson KS. Dental chews positively shift the oral microbiota of adult dogs. *Anim Sci J*, 2021a; 99(7): 1–14.
- Oba PM, Carroll MQ, Alexander C, Valentine H, Somrak AJ, Keating SCJ, Sage AM, Swanson KS. Microbiota populations in supragingival plaque, subgingival plaque, and saliva habitats of adult dogs. *Animal Microbiome*, 2021b; 3: 38.
- Ochoa S, Collado L. Enterohepatic *Helicobacter* species – clinical importance, host range, and zoonotic potential. *Crit Rev Microbiol*, 2021; 47(6): 728-761.
- Özavcı V, Erbas G, Parin U, Yüksel HT, Kirkan Ş. Molecular detection of feline and canine periodontal pathogens. *Vet Anim Sci*, 2019; 27(8): 100069.
- Özavcı V. Kısırlaştırılmış Pitbull ırkı köpeklerin oral florasında periodontal patojenlerin varlığının araştırılması.10. Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi Tam Metin Kitabı. Elazığ 28-30 Kasım 2022; s.: 159-168.
- Pejchalova M, Zabcikova S, Silhova L, Silha D, Brozkova I, Haslova M. Presence of *Arcobacter* species in pet cats and dogs in the Czech Republic. *Vet Med (Praha)*, 2016; 61(8): 449–455.
- Pérez-Cataluña A, Salas-Massó N, Diéguez AL, Balboa S, Lema A, Romalde JL, Figueras MJ. Revisiting the taxonomy of the genus *Arcobacter*: getting order from the chaos. *Front Microbiol*, 2018; 9: 2077.
- Perez-Perez GI. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Culture, including transport. *Gastroenterol Clin North Am*, 2000; 29(4): 879-884.
- Petersen RF, Harrington CS, Kortegaard HE, On SLW. A PCR-DGGE method for detection and identification of *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Arcobacter* and related Epsilonbacteria and its application to saliva samples from humans and domestic pets. *J Appl Microbiol*, 2007; 103: 2601–2615.
- Phung C, Scott PC, Dekiwadia C, Moore RJ, Van TTH. *Campylobacter bilis* sp. nov., isolated from chickens with spotty liver disease. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2022; 72: 005314.

- Pungaña MF, Pungaña LS, Muñoz IMG, Chávez BH, Morejón FB. Molecular characterization of *Arcobacter* spp. from samples of dairy serum from the cheese factories of the salinas, guaranda (ecuador). *Eur Chem Bull*, 2023; 12(S3): 505 – 514.
- Putra LAG, Yonathan CJ, Niedhatrata NI, Firdaus MHR, Yoewono JR. A Review of the Development of Polymerase Chain Reaction Technique and Its Uses in Scientific Field. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 2020; 2(1): 17-30.
- Rahman FU, Andree KB, Salas-Massó N, Fernandez-Tejedor M, Sanjuan A, Figueras MJ, Furones MD. Improved culture enrichment broth for isolation of *Arcobacter*-like species from the marine environment, 2020; 10: 14547.
- Rahman MT, Uddin MS, Sultana R, Moue A, Setu M. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. *AKMMC J*, 2013; 4(1): 30-36.
- Recordati C, Gualdi V, Tosi S, Facchini RV, Pengo G, Luini M, Simpson KW, Scanziani E. Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Vet Microbiol*, 2007; 119: 346–351.
- Ridsdale JA, Atabay HI, Corry JEL. Prevalence of *Campylobacters* and *Arcobacters* in ducks at the abattoir. *J Appl Microbiol*, 1998; 85: 567–573.
- Rukambile E, Sintchenko V, Muscatello G, Kock R, Alders R. Infection, colonization and shedding of *Campylobacter* and *Salmonella* in animals and their contribution to human disease: A review. *Zoonoses Public Health*, 2019; 66: 562–578.
- Segundo DDG, Mello CBE, Cargnelutti JF, Flores MM, Pedrotti LF, Antunes BN, Milech V, Velasquez OG, Martins LR, STLP. Evidence of *Helicobacter* spp. in saliva and gastric mucosa of domestic dogs in the central region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Vet Med Int*, 2021; 8857231.
- Shrestha RG, Tanaka Y, Haramoto E. A Review on the prevalence of *Arcobacter* in aquatic environments. *Water*, 2022; 14: 1266.
- Skirrow MB. John McFadyean and the Centenary of the First Isolation of *Campylobacter* Species. *Clin Infect Dis*, 2006; 43: 1213–7.
- Smith AC, Hussey MA. *Gram Stain Protocols*. ASM, 2005; 1-9.
- Snelling WJ, Matsuda M, Moore JE, Dooley JSG. Under The Microscope: *Arcobacter*. *Lett Appl Microbiol*, 2006; 42: 7–14.
- Snelling WJ, Matsuda M, Moore JE, Dooley JSG. Under The Microscope *Campylobacter jejuni*. *Lett Appl Microbiol*, 2005; 41: 297–302.
- Sohail H, Minhas U, Andleeb HA, Shafique E, Mahmood A, Asif A, Wasemm R, Ali A, Saleem F. In vitro antibacterial approach of *Syzygium cumini* leaves extract against diarrhea causing bacteria by using different biochemical test. *Tob Regul Sci*, 2023; 9(1): 1526-1541.
- Soto-Beltrána M, Lee BG, Amézquita-López BA, Quiñones B. Overview of methodologies for the culturing, recovery and detection of *Campylobacter*. *Int J Environ Health Res*, 2023; 33(3): 307–323.

- Springer B, Stockman L, Teschner K, Roberts GD, Böttger EC. Two-laboratory collaborative study on identification of *Mycobacteria*: molecular versus phenotypic methods. *J Clin Microbiol*, 1996; 34: 296–303.
- Taillieu E, Chiers K, Amorim I, Gärtner F, Maes D, van Steenkiste C, Haesebrouck F. Gastric *Helicobacter* species associated with dogs, cats and pigs: significance for public and animal health. *Vet Res*, 2022; 53: 42.
- Tarhane S, Otlı S. Investigation of some gastric *Helicobacter* species in saliva and dental plaque of stray cats by cultural and PCR methods. *J Hellenic Vet Med Soc*, 2019; 70(2): 1573-1578.
- Thongma, N; Sivamaruthi, BS; Bharathi M; Tansrisook C; Peerajan S; Tanongpitchayes K; Chawnan N; Rashmi S; Thongkorn K; Chaiyasut C. Influence of gallic acid-containing mouth spray on dental health and oral microbiota of healthy dogs: a pilot study. *Vet Sci*, 2023; 10: 424.
- Türedi OK, Şeker E. Mikrobiyolojide En Yaygın Moleküler Tanı Yöntemi: Polimeraz Zincir Reaksiyonu. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2023; 12(1): 118-125.
- Uljanovas D, Gölz G, Fleischmann S, Kudirkiene E, Kasetiene N, Grineviciene A, Tamuleviciene E, Aksomaitiene J, Alter T, Malakauskas M. Genomic characterization of *Arcobacter butzleri* strains isolated from various sources in Lithuania. *Microorganisms*, 2023; 11: 1425.
- Wallis C, Milella L, Colyer A, Flynn CO, Harris S, Holcomb LJ. Subgingival microbiota of dogs with healthy gingiva or early periodontal disease from different geographical locations. *BMC Vet Res*, 2021; 17: 7.
- Walker RI, Caldwell MB, Lee EC, Guerry P, Trust TJ, Ruiz-Palacios GM. Pathophysiology of *Campylobacter* Enteritis. *Microbiol Rev*, 1986; 81-94.
- Wang G, Clifford GC, Tracy MT, Pucknell C, Barton C, Price L, Woodward DL, Rodgers FG. 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(12): 4744–4747.
- Wang H, Li Y, Gu Y, Zhou G, Chen X, Zhang X, Shao Z, Zhang J, Zhang M. Isolation and genomic characteristics of cat-borne *Campylobacter felis* sp. nov. and sheep-borne *Campylobacter ovis* sp. nov. *Microorganisms*, 2023; 11: 971.
- Yağız A. Sığır Karkaslarından Ve Etlerinden Termofilik *Campylobacter* spp. İzolasyonu ve İzolatların Antibakteriyel Duyarlılıkları. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2017.
- Yamasaki Y, Nomura R, Nakano K, Naka S, Matsumoto-Nakano M, Asai F, Ooshima T. Distribution of periodontopathic bacterial species in dogs and their owners. *Arch Oral Biol*, 2012; 57: 1183-1188.
- Yasuda T, Lee HS, Nam SY, Katoh H, Ishibashi Y, Murayama SY, Matsui H, Masuda H, Rimbara E, Sakurazawa N, Suzuki H, Yoshida H, Seto Y, Ishikawa S, Jeon SW, Nakamura M, Nomura S. Non-*Helicobacter pylori Helicobacter* (NHPP) positive gastric cancer. *Sci Rep*, 2022; 12: 4811.

- Youssef A, Afifi A, Hamed A, Enany M. First report of PCR-based detection of *Helicobacter* species DNA in *Camelus dromedarius* in Egypt. *Vet World*, 2020; 13(9): 1898-1901.
- Zhang P, Zhang X, Liu Y, Jiang J, Shen Z, Chen Q, Ma X. Multilocus Sequence Types and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolates of Human Patients From Beijing, China, 2017–2018. *Front Microbiol*, 2020; 11: 554784.
- Zhou G, Wang M, Wang H, Chen X, Gu Y, Shao Z, Zhang J and Zhang M (2022) Species classification and novel plasmid identifications in *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter cryaerophilus*-like organisms. *Front Microbiol*, 2022; 13: 984450.



Sahipsiz Köpeklerin Ağız Mikrobiyotasında Arcobacter spp., Campylobacter spp. ve Helicobacter spp.'nin Kültürel ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması.

ORJİNALLİK RAPORU

%**25**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**23**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**8**

YAYINLAR

%**7**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**14**

2

Submitted to Erciyes Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

%**1**

3

avesis.erciyes.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

4

Rajani Ghaju Shrestha, Yasuhiro Tanaka, Eiji Haramoto. "A Review on the Prevalence of Arcobacter in Aquatic Environments", Water, 2022

Yayın

%**1**

5

wikimili.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

Submitted to University of Liverpool

Öğrenci Ödevi

<%**1**

7

dergipark.org.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Ayşe Birsen GÖKALP

Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti (TC)

EĞİTİM

<u>DERECE</u>	<u>KURUM</u>	<u>MEZUNİYET</u>
Doktora	ERÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
Lisans	OMÜ Veteriner Fakültesi	2013

YABANCI DİL

İngilizce