

Kanathlı Hayvanların Yeni Bir Patojeni: *Helicobacter pullorum*

Beren BAŞARAN KAHRAMAN^{1*}, Seyyal AK¹

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

*Sorumlu Yazar: Beren BAŞARAN KAHRAMAN İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
34320 Avcılar, İstanbul
e-posta: beren@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 23.02.2011

ÖZET

Son yıllarda tanınan Enterohepatik *Helicobacter* cinslerine dâhil olan *H. pullorum*' un tavukçuluk sektörünü etkileyebilecek önemli bir patojen olduğu düşünülmektedir. Ayrıca etkenin gıda kaynaklı zoonoz olma ihtimalinin yüksek olması ve insanlarda gastroenterit, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarıyla ilişkisi olduğunun düşünülmesi, şiddetli diare ile sonuçlanan vakalardan izole edilmesi etkenin önemini daha da arttırmaktadır. Bu derlemede *H. pullorum*' un etiyojisi, epizootiyolojisi, tanısı ve önemi tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter* spp., tavuk, insan, bağırsak

ABSTRACT

A NEW PATHOGEN IN POULTRY: *HELICOBACTER PULLORUM*

Enterohepatic *Helicobacter* species, including *H. pullorum*, are increasingly recognized as microbial pathogens for the poultry industry. Also, *H. pullorum* has been high probability of being zoonotic food-borne pathogen and with relations of gastroenteritis, the liver and gall bladder disease in humans, isolation of the agent which cases with severe diarrhea increased the value of the agent. In this review, *H. pullorum*'s etiology, epizootiology, diagnosis and significance are discussed.

Key Words: *Helicobacter* spp., chicken, human, intestine

Giriş

Helicobacter türleri, insan ve hayvanların intestinal içerik, mide ve iç organlarında bulunan ve birçok hastalığa neden olduğu saptanmış helikal ya da spiral şekilli mikroorganizmalardır. *Helicobacter* cinsi, Helicobacteraceae familyası, Campylobac-

terales takımı, Epsilonproteobacteria sınıfına dahildir ve filogenetik olarak rRNA süperfamilya VI içinde yer almaktadır (Stanley ve ark., 1994; Zaroni ve ark., 2007).

En yeni türlerden biri olan ve enterohepatik *Helicobacter* türleri (EHS) arasında yer alan *Helicobacter pullorum* (*H. pullorum*), Gram

negatif, sporsuz, kapsülsüz, diğer birçok *Helicobacter* türünden monopolar kılıfsız flagellası ile ayrılan, safraya dirençli hafif kıvrımlı çomak şekilli bakterilerdir. Enterohepatik *Helicobacter* cinslerine dâhil olan *H. pullorum*'un hayvanlar ve insanlar için önemli bir patojen olduğu vurgulanmaktadır. (Miller ve ark., 2006; Stanley ve ark., 1994; Zanoni ve ark., 2007). Dünyanın pek çok ülkesinde hastalıkla ilgili araştırmalar devam etmesine rağmen ülkemizde bu konu ile yapılan araştırma sayısı oldukça azdır (Başaran Kahraman, 2010).

Tarihçe

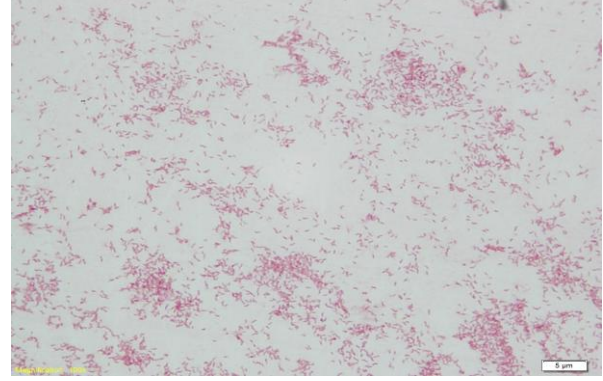
Stanley ve ark. (1994) asemptomatik etçi tavuk sekumlarından, vibriyonik hepatitli yumurtacı tavuk karaciğerleri ve intestinal içeriklerini içeren 12 kanatlı, ayrıca gastroenteritli dört insan dışkı örneğinden "Campylobacter Like Organism" (CLOs) izole ettiklerini ve bu izolatların bilinen *Campylobacter* türlerinden Dot-Blot DNA hibridizasyon metodu ile ayrıldığı bildirilmişlerdir. Araştırmacılar 16 izolatın 16S rRNA gen dizisini incelemişler elde ettikleri sonuçları relatif DNA homoloji testleri ve total protein modelleriyle destekleyerek bu izolatların yedisinin *Helicobacter* cinsi içinde olduğunu saptamışlar, *H. pullorum* olarak adlandırmışlardır (Stanley ve ark., 1994).

Etiyoloji

Helicobacter pullorum çomak şekilli Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, hafif kıvrımlı, 0.3 - 0.5 x 3-4 µm boyutlarında, diğer birçok *Helicobacter* türünden monopolar kılıfsız flagellası ile ayrılan, safraya dirençli bir bakteridir (Şekil 1) (Başaran Kahraman, 2010; Ceelen ve ark., 2006a; Dewhirst ve ark., 2005; Stanley ve ark., 1994).

Araştırmacılar *Helicobacter* türlerinin izolasyonunun oldukça zor olduğunu, izolasyonda kan ve serum katılmış zenginleştirilmiş besiyerlerine gerek duyulduğunu bildirmişlerdir (Abu Al-Soud ve ark., 2008; Andersen, 2001; Taneera ve ark., 2002). Burnens ve ark. (1996), sonraki yıllarda *H. pullorum*'un, içerisine 32 mg/L sefoperazon, 10 mg/L vankomisin, 3 mg/L amfoterisin B

katılmış, %5 at kanlı Columbia agarda üreme özelliğine sahip olduğunu saptamışlardır.



Şekil 1. Gram boyalı preparatta referans *H. pullorum* suşunun mikroskopik görüntüsü (x1000) (Başaran Kahraman, 2010).

Figure 1. Microscopic appearance of *Helicobacter pullorum* reference strain after Gram staining (x1000) (Başaran Kahraman, 2010).

Corry ve Atabay (1997), tavuk karkaslarından izole ettikleri üç *H. pullorum* izolatının cefoperazone charcaol deoxycholate (mCCD) ve/veya cefoperazone amphotericin teicoplanin (CAT) agarda üreme yeteneklerini incelemişler, bu besiyerlerinde üç suştan sadece ikisinin ürediğini bildirmişlerdir. Atabay ve ark. (1998) izole ettikleri 16 *H. pullorum* suşunun mCCD ve CAT besiyerlerinde üremediklerini, Brucella buyyon, Brain Heart Infusion buyyon (BHI) gibi sıvı besiyerlerinde ise üremelerinin zayıf olduğunu vurgulamışlardır.

Melito ve ark. (2000), yaptıkları bir çalışmada *H. pullorum* izolatlarının % 10 koyun kanlı Muller Hinton agarda ürediklerini, bu besiyerinin izolasyonda kullanılmasının uygun olduğunu bildirmişlerdir. Young ve ark. (2000), izolasyonda %5 koyun kanlı Tryptic Soy agarın kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bir grup araştırmacı ise yaptıkları çeşitli çalışmalarda izolasyonda 20 µg/ml amfoterisin B, Vitoks ve %10 koyun kanı katılmış BHI agar tercih ettiklerini bildirmişlerdir (Ceelen ve ark., 2005a; 2006b; 2007). Ayrıca bazı araştırmacılar izolasyonda %5 koyun kanlı Brucella agar kullanmışlardır (Başaran Kahraman, 2010; Manfreda ve ark., 2006; Zanoni ve ark., 2007).

Varon ve ark. (2009) ise % 10 koyun kanlı Columbia agarın izolasyonda başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmacılar izolasyonda inceleme örneği olarak sekal ya da fekal içerik gibi kontamine materyaller kullanıldığında, inceleme örneklerinin inaktif at serumu ve glukoz katkılı BHI agarda homojenize edilmesini ve Steele ve McDermott modifiye filtre metodu ile ekilmelerinin *H. pullorum*' un izolasyon şansını arttırdığını bildirmişlerdir (Başaran Kahraman, 2010; Ceelen ve ark., 2007; Manfreda ve ark., 2006; Steele ve McDermott, 1984; Zanoni ve ark., 2007).

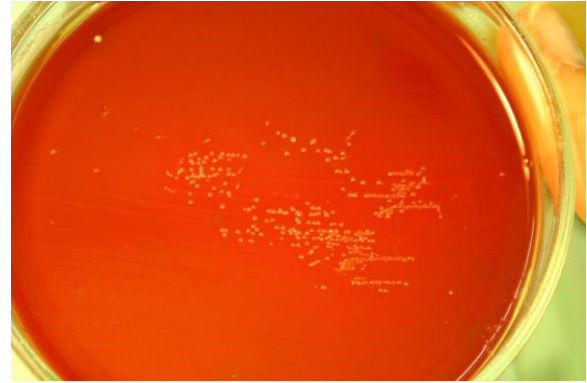
Yapılan çalışmalarda kontaminant bakterilerin üremesini en aza indirmek için 0.45 µm por çaplı selüloz asetat membran filtreler kullanılmıştır (Ceelen ve ark., 2007; Miller ve ark., 2006). Bazı araştırmacılar ise izolasyonda 0.65 µm por çaplı selüloz asetat membran filtreleri kullanılmasının izolasyon şansını arttırdığını belirtmişlerdir (Manfreda ve ark., 2006; Zanoni ve ark., 2007).

H. pullorum' un izolasyonu için birçok araştırmacı farklı atmosferik koşullar, inkübasyon süreleri ve inkübasyon ısıları kullanarak etkeni ürettiklerini belirtmişlerdir (Başaran Kahraman, 2010; Burnens ve ark., 1996; Ceelen ve ark., 2006a; Melito ve ark., 2000; Stanley ve ark., 1994; Varon ve ark., 2009; Zanoni ve ark., 2007).

H. pullorum' un kolonileri 1 mm çapında, küçük, pigmentsiz, yarı-şeffaf, gri-beyaz ve α-hemolitik özelliktedir (Şekil 2). Kolonilerinden yapılan Gram boyamalarda Gram negatif, hafifçe kıvrık basiller gözlemlendiği belirtilmiştir (Başaran Kahraman, 2010; Ceelen ve ark., 2006a; Neubauer ve Hess, 2006).

H. pullorum' un katalaz ve oksidaz testlerinin, ayrıca nitrat redüksiyonu, Triple Sugar Iron agarda H₂S oluşumunun, %1 safra katkılı Brucella agarda ve 37°C - 42°C de üreme özelliklerinin pozitif olduğu saptanmıştır. İndoksil asetat hidrolizi, üreaz ve DNaz aktivitesi, hippurat hidrolizi, %1 glisin katkılı Brucella agarda, %3.5 NaCl katkılı Brucella agarda ve 25°C'de üreme özelliği negatif olarak belirlenmiştir. Birçok

Helicobacter türü gibi *H. pullorum*' un da karbonhidratları fermente etmediği, identifikasyonda kullanılan birçok biyokimyasal aktivite testinin sonuca katkı sağlamadığı bildirilmiştir (Atabay ve ark., 1998; Melito ve ark., 2000; Stanley ve ark., 1994; Steinbrueckner ve ark., 1997; Zanoni ve ark., 2007).



Şekil 2. Referans *H. pullorum* suşunun %7 kanlı Brucella agarda koloni morfolojisi (Başaran Kahraman, 2010).

Figure 2. Colony morphology of of *Helicobacter pullorum* reference strain on Brucella agar supplemented with 7% blood (Başaran Kahraman, 2010).

Melito ve ark. (2000), *H. pullorum*' un birçok fenotipik özelliklerinin *Campylobacter coli* (*C. coli*) ve *Campylobacter lari* (*C. lari*) ile ortak olması nedeniyle *Campylobacter* türleri ile karışabileceklerini, ayrıca biyokimyasal testlerle ayrımlarının zor olduğunu bildirmişlerdir. Fox ve ark. (2000), *H. pullorum*' un *C. coli*'den indoksil asetat hidrolizi testi, *C. lari*'den ise %2 NaCl toleransı ve nalidiksik asit duyarlılığı testi ile ya da yağ asidi profillemesi testi gibi fenotipik testler yardımıyla ayrılabilirdiğini belirtmişlerdir.

Helicobacter pullorum' un antibiyotik duyarlılığı ile ilgili fazla veri bulunmamaktadır (Ceelen ve ark., 2005b; Pasquali ve ark., 2007). Burnens ve ark. (1994), çalışmalarında izole ettikleri *H. pullorum* suşlarının polimiksin B'ye duyarlı olduğunu ve polimiksin B katkılı *Campylobacter* türleri selektif besiyerinde üremediklerini bildirmişlerdir. Stanley ve ark.

(1994), izole ettikleri *H. pullorum* suşlarının sefalotin ve sefoperazona dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Atabay ve ark. (1998), *H. pullorum* izolatlarının, içinde nalidiksik asit bulunan besiyerlerinde %28 oranında üreyebildiklerini saptamışlardır. Melito ve ark. (2000), gastroenteritli hastalardan izole edilen 11 *H. pullorum* izolatının polimiksin B'ye duyarlı olduğunu, ayrıca sefalotin %100, nalidiksik asit'e ise %55 oranında dirençli olduklarını belirtmişlerdir.

Helicobacter pullorum' un virulens faktörleri ile ilgili çalışan araştırmacılar, *H. pullorum*'un virulens faktörleri olarak lipopolisakkarit membran (LPS) ve sitoletal şişirici toksin (cytolethal distending toxin - CDT)'i bildirmişlerdir (Ceelen ve ark., 2006d; Hynes ve ark., 2004; Young ve ark., 2000) . Hynes ve ark. (2004), *H. pullorum*'un lipopolisakkaritlerini kimyasal, serolojik ve elektroforetik yöntemlerle yapısal olarak karakterize ettiklerini, insan ve tavuklardan saptanan tüm *H. pullorum* suşlarında benzer profiller saptadıklarını vurgulamışlardır. Diğer bir virulens faktörü olan CDT, Johnson ve Lior (1987) tarafından ilk olarak *E. coli* suşlarında bildirilmiştir. Bu toksinin etkisini çalışan araştırmacılar, CDT'in hücrel şişme, hücre iskeleti anomalilerine neden olduğunu ve hücre döngüsünü durdurma yeteneğine sahip olduğunu ifade etmişler, özellikle toksinin hücreleri mitozu girmeden önce bloke ettiğini ve sonuçta hücrelerin öldüğünü saptamışlardır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, CDT'in üç polipeptidten oluştuğu ve aktif CDT oluşumu için üç genin (cdtA, cdtB, cdtC) gerekliliği belirtilmiştir (Ceelen ve ark., 2006d; Frisk ve ark., 2001; Lara-Tejero ve Galan, 2001; Young ve ark., 2000). Young ve ark. (2000), *H. Pullorum*'un CDT oluşturma yeteneğine sahip olduğunu, CDT'in DNA sekans homolojisi, sitotoksik aktivitesini saptadıklarını ve CDT'in potansiyel bir virulens faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Ceelen ve ark. (2006d), CDT'in biyolojik olarak aktif olan alt ünitesinin cdtB olduğunu bildirmişler, insan ve kanatlılardan izole edilen 13 *H. pullorum* izolatının tümünde cdtB geni saptadıklarını vurgulamışlardır. Ayrıca, CDT oluşumunun *H. pullorum* ile

infekte insanlarda diyare oluşumuna neden olabileceğini de düşündüklerini belirtmişlerdir.

Epizootiyoloji

Birçok ülkede *H. pullorum*' un varlığı ve prevalansı ile ilgili çalışmalar yapılmış, farklı oranlar saptanmıştır. Burnens ve ark. (1996), İsviçre'de yaptıkları bir araştırmada sağlıklı etçi tavuklarda *H. pullorum* prevalansını %4 olarak saptadıklarını buna karşın bu oranın makroskobik lezyona sahip vibrionik hepatitisi yumurtacı tavuklarda ise %50 olduğunu bildirmişlerdir. Atabay ve ark. (1998), İngiltere'de iki farklı çiftlikten toplanan etçi tavuklara ait sekum örneklerinden etkeni saptadıklarını ve *H. pullorum* prevalansının %60 olduğunu belirtmişlerdir. Ceelen ve ark. (2006a), Belçika' da 110 etçi tavuğun intestinal dokularının farklı bölgelerinden (sekum, kolon, jejunum) ve karaciğer dokularından PCR yöntemi ile *H. pullorum* spesifik DNA'sını %33,6 - %4,6 oranlarında saptadıklarını vurgulamışlardır. Manfreda ve ark. (2006), İtalya'nın kuzeyinde ve merkezinde etçi tavuklarda *H. pullorum* prevalansını %78,47 olarak belirtmişlerdir. Zanoni ve ark. (2007), İtalya'da *H. pullorum* prevalansının oldukça yüksek olduğunu, kesimhanelerden topladıkları yumurtacı ve etçi tavukların sekal içeriklerinden %100 oranında etken izolasyonu yaptıklarını vurgulamışlardır. Başaran Kahraman (2010), Türkiye'de PCR yöntemi ile incelediği 96 tavuğun 53'ünde (%55,2) *H. pullorum* spesifik DNA'sını saptadığını bildirmiştir. Ayrıca Fransa, Avustralya ve Kanada'da *H. pullorum* saptandığı bildirilmiştir (Fox ve Lee, 1997; Miller ve ark., 2006; Pilon ve ark., 2005).

Ceelen ve ark. (2006c), tavuklardaki izolasyonunun dışında *H. pullorum*'u mavi boyunlu halkalı paraket papağanının (*Psephotus haematogaster*) dışkısından izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Helicobacter pullorum'un tavuklar ve papağan dışında, çeşitli sindirim sistemi bozukluklarına sahip insanlardan izole edildiği bildirilmiştir. *H. pullorum*' un insanlardaki ilk izolasyonu gastroenteritli hastaların dışkılarından gerçekleştirilmiştir (Stanley ve

ark., 1994). *H. pullorum* DNA'sının insanların safra yollarından saptandığı ve safra kanalında hasar, kronik yangı, proliferasyon, safra kesesi ya da safra dokusu neoplazilerine neden olduğu vurgulanmıştır (Burnens ve ark., 1994, 1996; Fox ve Lee, 1997; Fox, 2002; Gibson ve ark., 1999; Martel ve ark., 2009; Starzyńska ve Malfertheiner, 2006; Young ve ark., 2000). Ayrıca immun sistemi zayıf olan enteritli hastalardan da *H. pullorum* izole edildiği vurgulanmıştır (O'rouke ve ark., 2001; Stanley ve ark., 1994; Steinbrueckner ve ark., 1997). Etken DNA'sının kronik hepatitis C ve hepatoselüler karsinomları bulunan hastaların karaciğer dokusunda saptandığı ve bu bakterinin hastada kronik hepatitten, siroza ve hepatoselüler karsinomaya ilerlemede rol oynadığı öne sürülmüştür (Ponzetto ve ark., 2000). Yapılan çalışmalarda, *H. pullorum*'un Crohn hastalığında da rol aldığı öne sürülmüş, araştırmacılar Crohn hastalarına yapılan kolon biopsilerinde *H. pullorum* DNA'sı saptadıklarını bildirmişlerdir (Andersen, 2001; Veijola ve ark., 2007). Kronik hepatitli hastaların karaciğer ve safra örneklerinden etken DNA'sı saptandığı vurgulanmıştır (Pellicano ve ark., 2004; Rocha ve ark., 2004), ayrıca, *H. pullorum*'un primer bilier siroz, primer skleroz kolanjit ve kronik otoimmun hepatitis ile ilişkisi de bildirilmiştir (Nilsson ve ark., 2003; Vorobjova ve ark., 2006).

Atabay ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada *H. pullorum*'u perakende tavuk ürünlerinde ve tavuk karkaslarında saptadıklarını bildirmişlerdir. Kesimhanede intestinal içerikle karkasın kontamine olması sonucunda *H. pullorum* ile infekte broylerlerin insanlardaki infeksiyonlardan sorumlu olabileceği düşünülmüştür (Ceelen ve ark., 2006b).

İnsanlarda *H. pullorum* infeksiyonlarının bilinmezliğini koruduğu ve geçmişte infekte insanlarda tanıda etkenin gözden kaçmış olabileceği bu nedenle önemli sayıda diyareli hastaya yanlış tanı konmuş olabileceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar, bu kanıya götüren sebeplerin en başında *Helicobacter* ve *Campylobacter*'lerin fenotipik benzerliğinin yüksek olması ve *H. pullorum*'un spesifik üreme koşullarına ihtiyaç duyması nedeniyle

izole edilememesini göstermişlerdir (Atabay ve ark., 1998; Gibson ve ark., 1999; Steinbrueckner ve ark., 1997; Young ve ark., 2000).

Helicobacter pullorum'un patogenezi hakkında az sayıda çalışma bildirilmiştir (Ceelen ve ark., 2007; Neubauer ve Hess, 2006). Neubauer ve Hess (2006), spesifik patojen free civcivlerde *H. pullorum*'un doku tropizmini inceledikleri çalışmalarında, insan kaynaklı izolatları, kanatlı izolatları ile karşılaştırmışlar, insan kaynaklı izolatların daha invaziv olduğunu vurgulamışlardır. Bu deneysel çalışmada *H. pullorum* kanatlı ATCC 51801 referans suşu ile oral yolla infekte ettikleri yedi günlük 12 spesifik patojen free civcivden beşinin sekumundan, birinin safra kesesinden PCR ile *H. pullorum* DNA'sını saptadıklarını ancak hiçbirinden etken izolasyonu yapılamadığını bildirmişlerdir. Ceelen ve ark. (2007), deneysel patogenezi çalışmalarında *H. pullorum*'un tavukların sekumuna kolonize olduklarını saptamışlar, etkenin sekal kriplerde varlığını ve sekal epitellerle ilişkisini bildirmişlerdir. Ayrıca 42. günde kesime soktukları hayvanlarda etken saçılımının kesim gününe kadar devam ettiğini saptamışlardır.

İnfekte hayvanlarda belirgin bir klinik semptomun şekillenmediği belirtilmiş deneysel çalışmalarda otopside makroskobik olarak büyük patolojik anomaliler gözlenmediği, jejunum serozasında kırmızı çizgiler, sekumda köpüklü eksudat ve sekum serozasında koyu kahverengi longitudinal çizgilerin gözlendiğini bildirmişlerdir (Ceelen ve ark., 2007; Neubauer ve Hess, 2006).

Tanı

Helicobacter pullorum'un tanısında kültürel metotlar, serolojik testler ve moleküler tanı yöntemleri kullanılmıştır (Burnens ve ark., 1994; 1996; Manfreda ve ark., 2006; Stanley ve ark., 1994; Young ve ark., 2000). Yapılan çalışmalarda *Helicobacter* türlerinin izolasyonunun oldukça zor olduğu bildirilmiştir (Andersen, 2001; Taneera ve ark., 2002). Araştırmacılar *H. pullorum* tanısında etken izolasyonunun önemli olduğunu ancak uzun zaman alması, taze örnek gerektirmesi ve

izolasyonun zor olması nedeniyle kültürle beraber serolojik testler ve PCR yönteminin de kullanıldığını bildirmişlerdir (Burnens ve ark., 1996; Gibson ve ark., 1999; Manfreda ve ark., 2006; Stanley ve ark., 1994).

Etken izolasyonunda kan ve serum katılmış zenginleştirilmiş besiyerlerine gerek duyulduğunu bildirilmiş; Columbia agarda, Brucella agarda, Muller Hinton agarda, Triptic Soy agarda, Brain Heart Infusion agarda, Brucella agarda etkenin üreme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır (Başaran Kahraman, 2010; Burnens ve ark., 1996; Ceelen ve ark., 2006a; Melito ve ark., 2000; Stanley ve ark., 1994; Varon ve ark., 2009; Zaroni ve ark., 2007).

Helicobacter pullorum'un izolasyonu için birçok araştırmacı farklı atmosferik koşullar, inkübasyon süreleri ve inkübasyon ısıları kullanarak etkeni ürettiklerini belirtmişlerdir (Başaran Kahraman, 2010; Burnens ve ark., 1996; Ceelen ve ark., 2006a; Melito ve ark., 2000; Stanley ve ark., 1994; Varon ve ark., 2009; Zaroni ve ark., 2007).

Yukarda belirtilen kültürel yöntemlerin dışında hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın önemli olan noktalardan birinin, izolasyon amacıyla toplanan örneklerin dondurulmadan soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara gönderilmeleri olduğu birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Manfreda ve ark., 2006; Zaroni ve ark., 2007).

Birçok hastalığın serolojik tanısında yaygın olarak kullanılan ELISA ile hayvanlarda bu konu ile ilgili bir çalışma yapılmamış, insanlarda ise yapılan çalışma sayısının kısıtlı olduğu belirlenmiştir (Ananieva ve ark., 2002; Lönngren ve ark., 2009). Ananieva ve ark. (2002), kronik karaciğer hastası insanların ve sağlıklı insanların kan serumu örneklerinden, *H. pullorum* hücre duvarı proteinlerinin antikor yanıtlarının saptanması amacıyla ELISA testini kullandıklarını ve elde edilen sonuçların kesin olmadığını, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) antikorları ile yüksek oranda çapraz reaksiyon saptadıklarını ve ELISA kullanımı için tür spesifik immunojenik proteinlerin identifiye ve pürifiye edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, araştırmacılar

Hepatit C virusuyla infekte kronik karaciğer hastalarının serumlarını asit glisin ekstraktı kullanarak ELISA ile incelediklerini, *H. pullorum* antikorlarını saptadıklarını ve sonrasında Immunblot test analizi ile bu örnekleri incelediklerini belirtmişlerdir (Lönngren ve ark., 2009).

Kültürel metotların yanısıra tanı için moleküler yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Ceelen ve ark., 2006a; 2007; Stanley ve ark., 1994; Zaroni ve ark., 2007). Yapılan birçok çalışmada *H. pullorum* DNA'sının direkt olarak inceleme örneklerinden saptandığı bildirilmiş, ayrıca bazı çalışmalarda örneklerden kültürel metotlarla saptanan şüpheli izolatların PCR yöntemi ile konfirme edildiği belirtilmiştir (Ceelen ve ark., 2006a; Stanley ve ark., 1994; Zaroni ve ark., 2007). Pilon ve ark. (2005) etkenin saptanması amacıyla real-time PCR yöntemini optimize ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar *H. pullorum* izolatlarının intraspesifik genetik çeşitliliğinin Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) ve Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) teknikleri ile incelediklerini, hayvan ve insan izolatları arasında korelasyon saptandığını belirtmişlerdir (Gibson ve ark., 1999).

Helicobacter pullorum izolatlarında antibiyotik duyarlılığı saptamak için The National Commmittee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) hazırlanmış bir metot ya da antibiyotik duyarlılığı ile ilişkili bir veri bulunmadığı, araştırmacıların çalışmalarında *H. pylori* ve *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) için bildirilen yöntemi kullandıklarını, agar dilüsyon yöntemiyle Minimum İnhibisyon Konsantrasyon'larını (MIC) saptadıklarını bildirmişlerdir. Ceelen ve ark. (2005b), *H. pullorum* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere Minimum İnhibisyon Konsantrasyon'larını agar dilüsyon yöntemiyle saptadıklarını, izolatların linkomisin, doksisisilin, gentamisin, tobramisin, eritromisin, tilozin, metronidazol, enrofloksasin ve nalidiksik asit'e duyarlı, ampisilin, seftriakson ve sulfametoksazol-trimetoprim'e dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç

Son yıllarda tavuklarda ve insanlarda saptanan *H. pullorum* giderek önem kazanmış ve özellikle insanlarda çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. *H. pullorum*'un gerek insanlardan gerekse tavuklardan ve insanlardan izolasyonu ve insanlarda ilişkilendirildiği hastalıklar birçok ülkede bildirilmiştir (Burnens ve ark., 1996; Ceelen ve ark., 2006a; Melito ve ark., 2000; Stanley ve ark., 1994). Oldukça yeni bir etken olması nedeni ile çalışmalar daha çok etken izolasyonu ve özellikle insanlarda oluşturduğu enfeksiyonlara yoğunlaşmıştır.

Tavuklarda *H. pullorum* varlığına ilişkin araştırmalar tüm dünyada devam etmesine rağmen henüz hayvan ve insan enfeksiyonlarındaki rolüne açıklık getirilememiştir. Ancak insanlarda birçok hastalık ile ilişkilendirilmesi etkene daha da önem kazandırmaktadır. *H. pullorum* ile ilgili birçok bilinmeyeninin olması nedeniyle konu ile ilgili araştırmaların sürdürülmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abu Al-Soud, W., Stenram, U., Ljungh, A., Tranberg, K.G., Nilsson, H.O., Wadstroma, T., 2008.** DNA of *Helicobacter* spp. and common gut bacteria in primary liver carcinoma. *Digestive and Liver Disease* 40, 126-131.
- Ananieva, O., Nilsson, I., Vorobjova, T., Uibo, R., Wadström, T., 2002.** Immune responses to bile-tolerant *Helicobacter* species in patients with chronic liver diseases, a randomized population group, and healthy blood donors. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 9, 1160-1164.
- Andersen, L.P., 2001.** New *Helicobacter* species in humans. *Digestive Diseases* 19, 112-115.
- Atabay, H.I., Corry, J.E.L., On, S.L.W., 1998.** Identification of unusual Campylobacter-like isolates from poultry products as *Helicobacter pullorum*. *Journal of Applied Microbiology* 84, 1017-1024.
- Başaran Kahraman, B., 2010.** Marmara Bölgesinde tavuklarda *Helicobacter pullorum*'un varlığının araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Burnens, A.P., Stanley, J., Morgenstern, R., Nicolet, J., 1994.** Gastroenteritis associated with *Helicobacter pullorum*. *Lancet* 344, 1569-1570.
- Burnens, A.P., Stanley, J., Nicolet, J., 1996.** Possible Association of *Helicobacter pullorum* with Lesions of Vibronic Hepatitis in Poultry. In: Newell, D.G., Ketley, J.M., Feldman, R.A. (Eds.), *Campylobacters, Helicobacters and Related Organism*. New York Plenum Press, pp. 291-293.
- Ceelen, L.M., Decostere, A., Verschraegen, G., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2005a.** Prevalence of *Helicobacter pullorum* among Patients with gastrointestinal disease and clinically healthy persons. *Journal of Clinical Microbiology* 43 (6), 2984-2986.
- Ceelen, L.M., Decoster, A., Devriese, L.A., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2005b.** In vitro susceptibility of *Helicobacter pullorum* isolates to different antimicrobial agents. *Microbial Drug Resistance* 11, 122-125.
- Ceelen, L.M., Decostere, A., Van den Bulck, K., Stephen, L.W., Margo, B., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2006a.** *Helicobacter pullorum* in Chickens, Belgium. *Emerging Infectious Diseases* 12, 263-267.
- Ceelen, L.M., Decostere, A., Van den Bulck, K., On, S.L.W., Baele, M., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2006b.** Occurrence of *Helicobacter pullorum* in broiler chickens and comparison of isolates using amplified fragment length polymorphism profiling. *Emerging Infectious Diseases* 12, 263-276.
- Ceelen, L., Decostere, A., Martel, A., Pasmans, F., Haesebrouck, F., 2006c.** First report of *Helicobacter pullorum* in the faeces of a diarrhoeic psittacine bird (*Psittacus haematogaster*). *The Veterinary Record* 159, 389-390.
- Ceelen, L.M., Haesebrouck, F., Favoreel, H., Ducatelle, R., Decoster, A., 2006d.** The cytolethal distending toxin among *Helicobacter pullorum* isolates from human and poultry origin. *Veterinary Microbiology* 113, 45-53.
- Ceelen, L.M., Decostere, A., Chiers, K., Ducatelle, R., Maes, D., Haesebrouck, F., 2007.** Pathogenesis of *Helicobacter pullorum* infections in broilers. *International Journal of Food Microbiology* 116, 207-213.
- Corry, J.E., Atabay, H.I., 1997.** Comparison of the productivity of cefoperazone amphotericin teicoplanin (CAT) agar and modified charcoal

- cefoperazone deoxycholate (mCCD) agar for various strains of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter pullorum*. *International Journal of Food Microbiology* 38, 201-209.
- Dewhirst, F.E., Shen, Z., Scimeca, M.S., Stokes, L. N., Boumenna, T., Chen, T., Paster, B.J., Fox, J.G., 2005.** Discordant 16S and 23S rRNA Gene Phylogenies for the Genus *Helicobacter*: Implications for Phylogenetic Inference and Systematics. *Journal of Bacteriology* 187 (17), 6106-6118.
- Fox, J.G., Lee, A., 1997.** The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. *Laboratory Animal Science* 47, 222-225.
- Fox, J.G., Chien, C.C., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Shen, Z., Melito, P.L., Woodward, D.L., Rodgers, F.G., 2000.** *Helicobacter canadensis* sp. nov. isolated from humans with diarrhea as an example of an emerging pathogen. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 2546-2549.
- Fox, J.G., 2002.** The non-*H. pylori* helicobacters. Their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut* 50, 273-283.
- Frisk, A., Lebens, M., Johansson, C., Ahmed, H., Svensson, L., Ahlman, K., Lagergård, T., 2001.** The role of different protein components from the *Haemophilus ducreyi* cytolethal distending toxin in the generation of cell toxicity. *Microbial Pathogenesis* 30, 313-324.
- Gibson, J.R., Ferrus, M.A., Woodward, D., Xerry, J., Owen, R.J., 1999.** Genetic diversity in *Helicobacter pullorum* from human and poultry sources identified by an amplified fragment length polymorphism technique and pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Applied Microbiology* 87, 602-610.
- Hynes, S.O., Ferris, J.A., Szponar, B., Wadstroem, T., Fox, J.G., O'Rourke, J., Larsson, L., Yaquian, E., Ljungh, A., Clyne, M., Andersen, L.P., Moran, A.P., 2004.** Comparative chemical and biological characterization of the lipopolysaccharides of gastric and enterohepatic helicobacters. *Helicobacter* 9, 313-323.
- Johnson, W.M., Lior, H., 1987.** Response of Chinese ovary hamster cells to a cytolethal distending toxin (CDT) of *Escherichia coli* and possible misinterpretation as heat-labile (LT) enterotoxin. *FEMS Microbiology Letter* 43, 19-23.
- Lara-Tejero, M., Galan, J.E., 2001.** CdtA, CdtB, and CdtC form a tripartite complex that is required for cytolethal distending toxin activity. *Infection and Immunity* 69, 4358-4365.
- Lönngren, V., Nilsson, I., Verbaan, H., Wadström, T., Ljungh, A., 2009.** High levels of serum antibodies to cell surface proteins of *Helicobacter pullorum* and *Helicobacter pylori* in hepatitis C virus-infected patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 44, 505-506.
- Manfreda, G., Rossi, M., Sanguinetti, V., Gavioli, R., Lozito, P., De Cesare, A., Zanoni, R.G., 2006.** Prevalence of *Helicobacter pullorum* in broiler chickens reared in intensive and extensive farms. *World's Poultry Science Journal* 62, 551-552.
- Martel, C., Plummer, M., Parsonnet, J., van Doorn L.J., Franceschi, S., 2009.** *Helicobacter* species in cancers of the gallbladder and extrahepatic biliary tract. *British Journal of Cancer* 100, 194-199.
- Melito, P.L., Woodward, D.L., Bernard, K.A., Price, L., Khakhria, R., Johnson, W.M., Rodgers, F.G., 2000.** Differentiation of clinical *Helicobacter pullorum* isolates from related *Helicobacter* and *Campylobacter* species. *Helicobacter* 5, 142-147.
- Miller, K.A., Blackall, L.L., Mifflin, J.K., Templeton, J.M., Blackall, P.J., 2006.** Detection of *Helicobacter pullorum* in meat chickens in Australia. *Australian Veterinary Journal* 84, 95-97.
- Neubauer, C., Hess, M., 2006.** Tissue tropism of *Helicobacter pullorum* in specified pathogen-free chickens determined by culture and nucleic acid detection. *Avian Disease* 50, 620-623.
- Nilsson, I., Kornilovs'ka, I., Lindgren, S., Ljungh, Å., Wadström, T., 2003.** Increased prevalence of seropositivity for non-gastric *Helicobacter* species in patients with autoimmune liver disease. *Journal of Medicine Microbiology* 52, 949-953.
- O'Rourke, J.L., Grehan, M., Lee, A., 2001.** Non-*pylori Helicobacter* species in humans. *Gut* 49, 601-606.
- Pasquali, F., Rossi, M., Manfreda, G., Zanoni, R., 2007.** Complete nucleotide sequence of the *gyrA* gene of *Helicobacter pullorum* and identification of a point mutation leading to ciprofloxacin resistance in poultry isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 30, 222-228.

- Pellicano, R., Mazzaferro, V., Grigioni, W.F., Cutufia, M.A., Fagoonee, S., Silengo, L., Rizzetto, M., Ponzetto, A., 2004.** *Helicobacter* species sequences in liver samples from patients with and without hepatocellular carcinoma. *World Journal Gastroenterology* 10, 598-601.
- Pilon, C., Prouzel-Mauléon, V., Ménard, A., Mégraud, F., 2005.** Development of a real-time quantitative PCR specific to *Helicobacter pullorum*. International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Abstracts of Scientific Presentations, September 4–Thirteenth Organisms (CHRO). Abstracts of Scientific Presentations, September 4–8th, Gold Coast, Queensland, Australia, pp. 62.
- Ponzetto, A., Pellicano, R., Leone, N., Cutufia, M.A., Turrini, F., Grigioni, W.F., D'Errico, A., Mortimer, P., Pizzetto, M., Silengo, L., 2000.** Helicobacter infection and cirrhosis in hepatitis C virus carriage. Is it an innocent bystander or a troublemaker? *Medical Hypotheses* 54, 275-277.
- Rocha, M., Avenaoud, P., Menard, A., Le Bail, B., Balabaud, C., Bioulac-Sage, P., de Magalhaes Queiroz, D.M., Megraud, F., 2004.** Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut* 54, 396-401.
- Stanley, J., Linton, D., Burnens, A.P., Dewhirst, F.E., On, S.L.W., Porter, A., 1994.** *Helicobacter pullorum* sp. nov.-genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and from human patients with gastroenteritis. *Microbiology* 140, 3441-3449.
- Starzyńska, T., Malfertheiner, P., 2006.** Helicobacter and digestive malignancies. *Helicobacter* 11, 32-35.
- Steele, T.W., McDermott, S.N., 1984.** The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathology* 16, 263-265.
- Steinbrueckner, B.G., Hearter, K., Pelz, S., Weiner, J. A., Rump, W., Deissler, S., Bereswill, M., 1997.** Isolation of *Helicobacter pullorum* from patients with enteritis. *Scandinavian Journal of Infectious Disease* 29, 315-318.
- Taneera, J., Moran, A.P., Hynes, S.O., Nilsson, H.O., Al-Soud, W., Wadstrom, T., 2002.** Influence of activated charcoal, porcine gastric mucin and beta-cyclodextrin on the morphology and growth of intestinal and gastric *Helicobacter* spp. *Microbiology* 148, 677-684.
- Varon, C., Duriez, A., Lehours, P., Ménard, A., Layé, S., Zerbib, F., Mégraud, F., Laharie, D., 2009.** Study of *Helicobacter pullorum* proinflammatory properties on human epithelial cells in vitro. *Gut* 58, 629-635.
- Vejjola, L., Nilsson, I., Halme, L., Abu Al-Soud, W., Mäkinen, J., Ljungh, A., Rautelin, H., 2007.** Detection of *Helicobacter* species in chronic liver disease and chronic inflammatory bowel disease. *Annals of Medicine* 39, 554-560.
- Vorobjova, T., Nilsson, I. Terjajev, S., Granholm, M., Lyyra, M., Pokka, T., Prück, T., Salupere, R., Maaroos, H.I., Wadström, T., Uibo, R., 2006.** Serum antibodies to enterohepatic *Helicobacter* spp. in patients with chronic liver diseases and in a population with high prevalence of *H. pylori* infection. *Digestive and Liver Disease* 38, 171-176.
- Young, V.B., Chien, C.C., Knox, K.A., Taylor, N.S., Schauer, D.B., Fox, J.G., 2000.** Cytolethal distending toxin in avian and human isolates of *Helicobacter pullorum*. *The Journal of Infectious Diseases* 182, 620-623.
- Zanoni, R.G., Rossi, M., Giacomucci, D., Sanguinetti, V., Manfreda, G., 2007.** Occurrence and antibiotic susceptibility of *Helicobacter pullorum* from broiler chickens and commercial laying hens in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 116, 168-173.