

## **Helicobacter pylori: Yeni Bir Gıda Patojeni mi?**

Ahmet GÜNER, Nihat TELLİ

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
Kampus, Konya-TÜRKİYE

**Özet:** *Helicobacter pylori* kolonize olduğu bireylerde başlıca aktif kronik gastrit, peptik ülser, duodenal ülser ve mide kanserinin yanı sıra birçok infeksiyonda tespit edilmiş önemli bir patojendir. Dünya Sağlık Örgütü *H. pylori*'yi I. sınıf karsinogen olarak sınıflandırmıştır. Bulaşma yolları kesin olarak bilinmemektedir. Gıda ve su kaynaklı bulaşmanın halen tartışmalı olduğu, infeksiyonun epidemiyolojisinde fekal-oral ve oral-oral bulaşma fikrinin daha ağır bastığı bildirilmektedir. *H. pylori*'nin canlı fakat kültürü yapılamayan (Viable But Nonculturable, VBNC) formunda uzun süre patojen özelliklerini kaybetmeden yaşaması, sular ve kontamine sularla yıkanan sebzelerde tespit edilmesi, vakumlu veya vakumsuz paketlemenin *H. pylori*'nin canlılığı üzerinde çok az bir etkisinin bulunması, soğutulmuş ve dondurulmuş olarak muhafaza edilen kıymalarda belirli bir süre canlı kalabilmesi, bakterinin taşınması ve bulaşmasında gıda maddelerinin bir vasıta olabileceği fikrini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda kaynaklı yeni patojen, *Helicobacter pylori*, yaşama kabiliyeti

### **Helicobacter pylori: Is it a New Emerging Food-Borne Pathogen?**

**Summary:** *Helicobacter pylori* is an important pathogen found in active chronic gastritis, peptic and duodenal ulcers, gastric cancer and also some infections in people colonized with *H. pylori*. The World Health Organization has classified *H. pylori* as a type I carcinogen. Transmission routes have not been clearly understood yet. It has been reported that fecal-oral and oral-oral transmission is the most important vehicle while transmission via food and water is still controversial. Survival of *H. pylori* for several days without losing its pathogenicity in VBNC (Viable But Nonculturable) form, its detection in water and vegetables irrigated with contaminated water, minor effect of packaging in vacuum or air on survival of *H. pylori*, its ability to survive for long periods of time in ground beef during frozen storage are the findings that support the idea that food and water are vehicles in transmission.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, new emerging food-borne pathogen, survival

### **Giriş**

Gıda kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi son yirmi yılda değişmiştir (51, 63). Mevcut gıda kaynaklı problemlerin birçoğu henüz çözüme kavuşmadan, yeni ortaya çıkan patojenler ve yeniden önem kazanan patojenlerin yeni özellikler kazanarak daha önce taşınmadığı gıdalarla taşınması bu durumun özeti (63). Yeni ortaya çıkan gıda patojenleri, geniş bir coğrafyaya uzun yıllardır yayılmış, fakat hastalık etkenlerinin analizi ve identifikasyonundaki yeni ve gelişen bilgi ve metotlardan dolayı son yıllarda tanımlanabilmiştir (67). Birçok patojen, yeni olarak ortaya çıkmış olup gıda kaynaklı patojenler arasında önemli bir potansiyele sahiptir. Bunlara örnek olarak *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* Definitive Type 104, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayotensis*, *Arcobacter butzleri* ve *Helicobacter pylori* sayılabilir (51). *H. pylori*, taşınma yolu tam olarak bilinmediği için henüz kesin olarak su ve gıda kaynaklı bir patojen olarak sınıflandırılmamıştır. Sular-

da mikrobiyolojik tekniklerle mevcudiyeti ortaya konulamayan *H. pylori*'nin mikroskopik tekniklerle belirlenmesi (31), bakterinin kokoid formlarının nehir sularında 20 günden fazla aktif kalması (58), VBNC (viable but non-culturable, canlı fakat kültür edilemez) formlarının su ve gıdalardan izolasyonunun zorluğu, vejetatif formda  $10^4$ - $10^6$  kob/g, VBNC formunda ise yaklaşık  $10^2$  kob/g düzeyinde yangısal reaksiyonları başlatması, vakumlu veya vakumsuz paketlemenin *H. pylori*'nin canlılığı üzerinde çok az bir etkisinin olması, soğutulmuş ve dondurulmuş olarak muhafaza edilen kıymalarda belirli bir süre canlı kalabilmesi (61) şeklinde değişik araştırmalarda elde edilen bulgular; bakterinin taşınması ve bulaşmasında gıda maddelerinin bir vasıta olabileceği fikrini desteklemektedir (51, 66).

### **Fenotipik özellikleri**

*H. pylori*, Latince'de midenin alt kısımlarının spiral çubuğu anlamına gelmektedir (66). Gram negatif, mikroaerofilik, oksidaz, katalaz, üreaz ve H<sub>2</sub>S pozitif olup hippurati hidrolize etmeyen bir bakteridir. Bakteri 30-37°C (66), % 2-5 O<sub>2</sub>, % 5-10 CO<sub>2</sub> içeren mikroaerobik (65) ve yüksek rutubetli ortamlarda

(41, 65) optimum gelişme gösterir. 25 °C'de gelişmez, 42 °C'de gelişme değişkendir (66). *H. pylori* 2.5-5.0 µm uzunluğunda, 0.5-1 µm genişliğinde (14, 65) ve çoklu unipolar flagellaları ile hareketlidir (66). Mide mukoza biyopsisinden izole edilenler spiral görünümde, katı besiyerlerinde kültürü yapıldığı zaman bükük çubuk tarzında, katı veya sıvı besiyerlerinde kültür süresinin uzamasıyla kokoid görünümde olan bir bakteridir (14). Bakteri bükük çubuk olarak görünmesine rağmen, in vitro kültür süresinin uzaması, su, süt ve diğer ortamlarda uzun bir inokülasyon süresi geçirmesi, gıda unsurlarının yetersizliği, uygun olmayan su aktivitesi değerleri ve bulunduğu ortamda antibiyotik varlığı durumlarında VBNC formuna dönüşmekte, bakterinin hücre yapısı da basil görünümünden kok görünümüne değişmektedir. Kokoid formu in vitro olarak kültüre edilemediğinden ölü hücre olarak düşünülse de, kokoid form VBNC durum olarak bilinir. Diğer bir ifadeyle VBNC forma dönüşmüş bakteri kokoid görünümündedir (22, 65). Kan içeren katı besiyerlerinde 1-2 mm çaplı, pigmentsiz, yarı şeffaf koloniler oluşturduğu bildirilmektedir (33, 41). Asıl yaşadığı ortam asit özellikli mide mukozası olsa da, bakterinin nötr ortamlarda yaşadığı düşünülmektedir. Gelişme pH'sı 5.5-8 aralıklarında kabul edilen bakteri pH 4'ün altında kısa süre yaşayabilir (65).

Bakteri ondokuzuncu yüzyılın sonlarından itibaren Avrupalı patoloğlar tarafından mide mukozası biyopsi örneklerinin histolojik analizlerinde bükük bakteriyel hücreler olarak bilinmesine ve dikkat çekmesine rağmen (27, 65), ilk kez 1982 yılında Warren ve Marshall tarafından insanın mide mukozasından alınan endoskopik biyopsi örneğinden izole edilmiştir (26, 27, 28, 65, 68). İlk izole edildiğinde *Campylobacter pyloridis* (26, 27) daha sonra *Campylobacter pylori* olarak isimlendirilmiştir (28, 41). Bu bakterinin *Campylobacter* soyuna ait olmadığını, Goodwin ve çalışma arkadaşları ortaya koymuşlar ve 1989 yılında yeni bir soy altında *Helicobacter pylori* olarak klasifiye etmişlerdir (28). *H. pylori*'yi *Campylobacter* soyundan ayıran temel noktalar; kını olan çoklu flagellaya sahip olması, üreyi çok hızlı olarak hidrolize edebilmesi ve yağ asitleri profilleridir (41). *H. pylori*'nin güçlü üreaz aktivitesinin yanı sıra, antimikrobiyel maddelere karşı duyarlılığındaki ve karbonhidrat profilindeki farklılıklar da bakteriyi *Campylobacter* soyundan ayırmaktadır (66). *H. pylori* glukozu katabolize eder, ancak diğer karbonhidratları katabolize edemez. Amino asitlerin (arjinin, histidin, izolösin, lösin, metiyonin, fenilalanin ve valin) ilave edildiği besiyerlerinde gelişebilir. Bazı suşlar gelişmeleri için bu amino asitlerin yanı sıra alanin ve serin amino asitlerine de ihtiyaç duyarlar (65).

*Helicobacter* soyunda, hayvanlarda varlığı kesin olarak ortaya konulan 13 tür belirlenmiştir (Tablo 1). Bu türler boyut, morfoloji, etkilediği konakçı ve kültürlerde üreyip üremediğine göre ayrılmışlardır (36). *Helicobacter*'in bütün türleri patojenik olmadığı gibi hepsi gastrointestinal sistemde aynı derece ve tipte patolojik bozukluk oluşturmazlar. İnsanlarda başlıca patojen *H. pylori* olmasına rağmen, *Helicobacter heilmannii* ülser hastalarının çok az bir kısmından izole edilmiştir (14, 36). *H. heilmannii*, *H. pylori*'ye göre daha ılımlı aktif akut gastritli hastalarda tespit edilmiştir (14). Günümüze kadar üç *Helicobacter* türü insan bağırsaklarının alt kısımlarında saptanmıştır (36).

### Hastalığın tablosu ve patojenitesi

Habitatı insan ve sıcak kanlı hayvanlardır (33). İnsan ve hayvanlar için patojendir. İnsanlarda birçok genel kronik enfeksiyonda rol oynayabileceği bildirilmektedir (41). Gönüllü insanlarda minimal enfeksiyon dozu 10<sup>5</sup> koloni oluşturan birim olarak bildirilmiştir. Buna karşın, antibiyotik tedavisi sonrasında tekrar ortaya çıkan enfeksiyonda, dozun 10 -100 kez azaldığı bildirilmiştir (65). Farelerin mide mukozasına, vejetatif formda 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> düzeyinde, VBNC formunda ise yaklaşık 10<sup>2</sup> düzeyindeki *H. pylori*'nin kolonize olduğu ve yagısal reaksiyonları başlattığı bildirilmektedir (66).

Epidemiyolojik bulgular enfeksiyonun genellikle çocukluk döneminde oluştuğunu gösterebilir, yagısal değişiklikler yaşam boyunca sürebilir (16). Ancak *H. pylori*'nin kolonizasyonu daima patolojik bulguların gelişmesi ile seyretmez, çünkü enfekte insanların %70'nin asemptomatik olduğu bildirilmiştir (65). *H. pylori*'nin kolonize olduğu bireylerde aktif kronik gastrit, peptik ve duodenal ülser, mide kanseri, mukoza lenfoid doku ile ilişkili lenfoma gelişebilir (16, 21, 28, 41, 51, 65, 66). Dünya Sağlık Örgütü *H. pylori*'yi I. sınıf karsinojen olarak sınıflandırmıştır (31). Kronik gastrit ve peptik ülserin etiyolojisinde genellikle gelişmiş ülkelerden bildirilmesine rağmen, gastrik karsinomla ilişkisi özellikle gelişmekte olan ülkelere bildirilmiştir (20). Nitekim, Chengyou ve ark. (9), mide kanseri yüksek bölgedeki çocuklarda *H. pylori* prevalansını %69.4, CagA üreten suş oranını ise %88.5 olarak bulurken, mide kanseri düşük olan bölgede ise bu oranları %28.7 ve %81.3 olarak bulmuşlardır. Komoto ve ark. (40), *H. pylori* seroprevalansını mide kanserli hastalar (%93) ile adenomlu hastalarda (%94) kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek bulmuşlar ve mide kanseri ve adenom ile *H. pylori* seroprevalansı arasında güçlü ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir. Hisada ve ark. (32), mide kanseri ve

**Tablo 1.** *Helicobacter* türlerinin konakçı spektrumu ve oluşturduğu patolojik bulgular (36)

Helicobacter türü	Konakçı	Gastrointestinal filtrat ve mide patolojisi	Zoonotik özelliği
<i>H. pylori</i> tip I ve II	İnsan, kedi, domuz,	Lenfoplazi, nötrofili, eozinofili, ülseras-	Muhtemel
<i>H. acinonyx</i>	köpek Çita	yon ve insanlarda gastrik karsinom Şiddetli lenfoplazi, nötrofili, lenfoid folikül epitelyum erozyon	Bilinmiyor
<i>H. felis</i>	Kedi, köpek ve insan	Lenfoplazi, lenfoid nodül, nötrofili, eozi- nofili	Bilinmiyor
<i>H. heilmannii</i> (eski adı: <i>Gastropirillum hominis</i> )	İnsan, köpek, kedi, çita, primate, domuz	Lenfoplazi, netrofili, eosinofili	Muhtemel
<i>H. mustelae</i>	Gelincik	Lenfotik karsinom	Bilinmiyor
<i>H. canis</i>	Köpek	Karaciğer nekrozu	Bilinmiyor
<i>H. bizzozeronii</i>	Köpek	Bilinmiyor	Bilinmiyor

kronik gastritisi olan hastalarda *H. pylori*'nin üre testi, histolojik ve mikrobiyolojik testlerle tespit edilemediğini, fakat serolojik yöntemlerle varlığının ortaya konulduğunu bildirmişlerdir.

*H. pylori*'nin patojenitesi tam olarak anlaşılamamıştır (22). Patojenitesi başlıca oldukça yüksek asit ortamlarda yaşama özelliğinden kaynaklanabilir (36). Gerek midenin asit ortamına adapte olabilmesi, gerekse daha sonra ürettiği bir takım metabolitler bakterinin patojenitesinde etkilidir. Midenin asit ortamına adapte olmada etkili olan faktörler; üreaz, müsinaz pozitif olması ve hareket kabiliyetidir. Virulans faktörü olan başlıca toksinler VacA, CagA, cag PAI, OMPs'dir (19).

Üreaz mide sıvısında üreyi amonyak ve bikarbonat iyonlarına ayırır. Amonyak, amonyum oluşturmak üzere su ile reaksiyona girer ve oluşan amonyum bakterinin etrafını çevreleyen mide mukus tabakasının pH'sını yükseltir. Bu tamponlayıcı etki bakterinin yaşamasını artırır (36). Üreaz, bakterinin yüzeyinde ve sitoplazmasında bulunur (14, 36). İn vitro olarak sitoplazmik üreazın bakteriyi zararlı etkilere karşı koruyamadığı, ancak yüzeyde bulunan üreazın bakteriyi in vivo ve in vitro olarak asit etkisine karşı koruduğu bildirilmiştir (14).

Mide epiteli mukus tabaka tarafından korunur (19). *H. pylori*, *Vibrio cholerae*'nin sahip olduğu musinaz genine benzer olan bir gene sahiptir. Bu gen muhtemelen mide mukozası bariyeri olan musinin yıkılmasına sebep olur. Benzer şekilde *Helicobacter*

türleri, en önemli mide mukozası bariyeri olan mukus tabakasını bozar (14, 36).

Hareket, bakterinin kolonize olabilmesi için en temel faktörlerden birisidir (14). Midenin peristaltik hareketlerine karşı adaptasyonu, bakterinin spiral yapısı ve çok hareketli olmasına bağlanmaktadır (66).

*H. pylori* epitel hücrelerinde, in vitro vakuol ürettiği tespit edilen sitotoksin üretir (36). Önemli virulans faktörü olan toksinler başlıca CagA, Cag PAI, VacA, OMPs'dir (19). Hisada ve ark. (32), mide rahatsızlığı olan 30 Jamaikalı hasta üzerinde yapılan mikrobiyolojik testlerde izole edilen *H. pylori*'nin predominant genotiplerinin CagA, VacA, slb-m1 ve iceA2 proteinlerini içerdiklerini bildirmişlerdir. *H. pylori* suşlarından VacA toksini ve CagA proteini oluşturanlar tip I olarak bilinmekte ve CagA ve VacA üretmeyenlere göre virulansinin yüksek olduğu bildirilmektedir (36, 47). VacA virulans faktörü, insanlar ve maymunlarda tespit edilmiştir (13). Vakualizasyon oluşturan bu toksin, kronik gastritli hastaların mide epitelinin yanı sıra memeli hücrelerinde yoğun vakualizasyonun da sebebidir (66). VacA, peptik ülser ve mide kanserinin patojenezinde önemli virulans faktörü olarak kabul edilir. Papi ni ve ark. (52), *H. pylori*'nin salgıladığı ~88 kDa olan VacA isimli toksinin peptik ülserlerin patojenezinde önemli bir virulans faktör olabileceğini bildirmektedirler. CagA geni (sitotoksin ilişkili gen) en çok çalışılan *H. pylori* genidir (21). Lopez-Carillo

ve ark. (46), mide kanseri ile CagA pozitif bireyler arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. *H. pylori* suşları 30 geni kodlayan 40-kb gen segmentli bütün halde *cag* patojenik adacıkları (PAI, pathogenicity island) içerir. Bu adacıkları içeren suşlar, bunları içermeyenlere göre daha yüksek yangısal reaksiyon gösterirler. Yüzey membran proteinleri (OMPs, Outer Membrane Proteins), birçok gen tarafından kodlanmaktadır. BabA toksini; SabA, AlpAB ve OipA gibi kokuşma yapıcı virulans faktörlerini içermekte ve *H. pylori*'nin patojenitesinde önem arz etmektedir (19).

Bakterinin metabolitlerinde meydana gelen artış, nitratın nitrite indirgenmesini ve nitritin de amin ve amidlerle birleşmesini başlatabilir. Aminler ve amidler çeşitli gıdalar ve ilaçlar vasıtasıyla vücutta her zaman bulunabilir ve nitritlerle mutajenik ve kanserojenik özellik gösteren N-nitrozo bileşiklere dönüşebilir (66). Ancak, Lopez-Carillo ve ark. (46), mide kanseri ile nitrit ve askorbik asit alımı arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

*H. pylori*'nin gastrit, peptik ve duodenal ülser ve mide kanseri dışında insanlardaki değişik kronik infeksiyonların etkeni olabileceği yönünde de çalışmalar bulunmaktadır. Midenin asit ortamı, enterik patojenlere karşı önemli bir savunma bariyeri oluşturmaktadır. Bu bariyerin gastrik mukozada oluşan lezyonlara bağlı olarak yıkılması, çocukları kolera ve tifo gibi enterik hastalıklara ve beslenme bozukluklarına bağlı olarak da daha duyarlı hale getirmekte ve bu durum gelişmekte olan ülke çocuklarında kronik olarak uzun süre devam etmesi, malnutrisyon, büyümede gerileme ve ölümlere yol açmaktadır (20). Hara ve ark. (30), akut miyokard infeksiyonu geçiren hastaların immunoglobulin A (IgA) titresinin, kontrol grubu ve eski miyokard infeksiyonu geçiren hastalardan önemli düzeyde yüksek bulunduğunu, dolayısıyla *H. pylori* infeksiyonlarının aktif fazında bir indeks olarak kullanılan IgA titresinin, miyokard infeksiyonlarının etiyolojik belirteci olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kusano ve ark. (43), IgA nefropatisi olan üst damak tonsillitli hastalarda, tekrarlayan faringotonsillitli hastalara göre *H. pylori* prevalansını önemli düzeyde yüksek bulduklarını ve üst damak tonsillitlerdeki kokoid formdaki *H. pylori* varlığını; *H. pylori*'nin IgA nefropatisinin antijenleri arasında olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

## Epidemiyolojisi

### Prevalans ve insidans

*H. pylori*'nin prevalansı; coğrafik bölge, etnik yapı, sosyo-ekonomik durum ve yaşa bağlı olarak değişir (21). Amerika Birleşik Devletleri'nde yetişkinler-

de %20 oranında görülen infeksiyon prevalansı, gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşına kadar olan çocuklarda ve yetişkinlerde %90'ı geçmektedir (20, 22). Hastalığın prevalansı özellikle kırsal gelişmekte olan bölgelerde, gelişmiş olan kentlere göre daha yüksek olup bu farklılığa değişik mikrobiyolojik çevreler ve oldukça fazla olan risk faktörlerinin yol açabileceği belirtilmektedir (65). Prevalans verilerinden, 5 yaşına kadar olan çocuklarda infeksiyon insidansının en yüksek oranda olduğu anlaşılmaktadır (20, 22).

### Bulaşma kaynakları ve yolları

Bulaşma yolu kesin olarak halen bilinmemesine rağmen insan dışkısında bulunması dolayısıyla infeksiyonun epidemiyolojisinde fekal-oral ve oral-oral bulaşmanın olası olduğu bildirilmiştir (20, 65, 66). Ancak taşınması, insandan insana, zoonotik, su ve gıda kaynaklı olmak üzere muhtemelen birçok yolu içermektedir. Kontamine gıda ve/veya su kaynaklarına, *H. pylori* ile enfekte olmada önemli riskler olarak atıf yapılmıştır (20, 66).

Fekal-oral bulaşma direkt olarak genellikle enfekte kişilerden kalabalık veya hijyenik şartların yeterince uygun olmadığı ortamlar aracılığı ile veya indirekt olarak kontamine su ve gıdalar vasıtasıyla meydana gelir (21). Thomas ve ark. (64), 3-27 aylık 23 çocuk dışkısının 9 adedinde *H. pylori* tespit ettiklerini ve hastalığın yayılmasında fekal-oral bulaşmanın önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fekal-oral veya oral-oral bulaşmada aile içi bulaşmanın önemi de vurgulanmıştır. Malaty ve Nyren (48), çocukluğun ilk yaşlarında *H. pylori* infeksiyonunun taşınmasında annelerin önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Drumm ve ark. (12), *H. pylori* ile kolonize olmuş 34 çocuğun ebeveynlerinin 25'inde kolonize olmamış 33 çocuğun ebeveynlerinin 8'inde *H. pylori*'ye karşı antikor tespit ettiklerini, kardeşlerinin 22 tanesinin *H. pylori* ile kolonize olduğunu ve bunların 18 adedinin antikor taşıyıcı olduğunu saptamışlardır.

Oral-oral bulaşma, dental plaklar ve salyada *H. pylori* DNA'sının PCR ile saptandığı (21) önemli bir bulaşma kaynağıdır (65). Ferguson ve ark. (18), dokuz hastanın bir tanesinin ağız sıvısından *H. pylori* üretildiğini bildirmişlerdir. Krajden ve ark. (42), 71 hastanın dental plaklarında ve salyası ile mide endoskopisi neticesinde 29 (%40.8) mide biyopsi örneğinde *H. pylori* tespit edildiğini, bir dental plakta *H. pylori* üretilmesine rağmen salyadan tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Banatvala ve ark. (2), Londra'nın doğusunda Bangladeşli okul çocuklarının dental plaklarında daha önceki çalışmalarda belirtilenlerden çok daha yüksek prevalansta *H. pylori* tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bakteri sayısının düşük olmasını, kültüre edilmesindeki zorluklara bağlamışlardır.

Su kaynaklı bulaşma dünyanın birçok bölgesinden bildirilmiş ve muhtemelen fekal kontaminasyonun bir sonucudur (21). *H. pylori*'nin su vasıtasıyla indirekt olarak bulaştığına dair bulgu ve kanıtlar; su örneklerinde DNA'sına rastlanması, kokoid formlarının suda tespit edilmesi, deneysel olarak kontamine edilen sularda uzun süre canlı kalması ve su örneklerinden *H. pylori*'nin üretilmesidir (65). Ayrıca su kaynaklarına yapılan klorlama ve ozonlama işlemlerine *E. coli*'den daha dayanıklı olduğu bildirilmektedir. Dolayısıyla geleneksel olarak kullanılan indikatör mikroorganizmalar tüketicileri sularda vasıtasıyla *H. pylori* bulaşmalarına korumada yetersiz kalabilir (65). Baker ve ark. (1), su dağıtım sistemlerinde normal konsantrasyondaki ozon ve klor *H. pylori*'nin *E. coli*'ye göre daha dayanıklı, buna karşın monokloramine *E. coli* kadar duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Hegarty ve ark. (31), toplam koliform veya *E. coli*'nin bulunmadığı sulardan *H. pylori*'yi izole etmişler ve geleneksel olarak araştırılan indikatör mikroorganizma sonuçlarının tüketicileri *H. pylori* ile karşı karşıya koymaktan alıkoymayacağını ileri sürmüşlerdir.

Goodman ve ark. (24), nehirlerde ve havuzlarda yüzmenin yanı sıra nehir sularını içme suyu olarak kullananlarda infeksiyon riskinin arttığını bildirmişlerdir. Hegarty ve ark. (31), Pennsylvania ve Ohio'da yüzey ve derin olmayan yer altı sularında mikroskopik tekniklerle *H. pylori*'nin varlığını sırasıyla %60 ve %65 olarak tespit etmişler ve sonuçların bu bakterinin su kaynaklı olarak bulaşabileceğini desteklediğini bildirmişlerdir. Rolle-Kampczyk ve ark. (57), kuyu suyu içen insanlarda infeksiyon pozitif bulunanların %80'inin *H. pylori* pozitif kuyu sularını kullandıklarını, dolayısıyla *H. pylori* ile kontamine suları kullanmanın *H. pylori* infeksiyonlarına maruz kalmada önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Karita ve ark. (38), Japonya'da kuyu suyunu kullanma geçmişi 10 yıl olan kişilerde *H. pylori* prevalansını %85.3, kuyu suyu kullanmayanlarda ise %25 olarak saptamışlar ve Japonya'da *H. pylori* bulaşmasının çoğunlukla su kaynaklı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Klein ve ark. (39), Peru'da yüksek gelirli ve şehir şebekesinden su ihtiyacını gideren ailelerin çocuklarında, yüksek gelirli ancak kuyu suyu kullananlara göre 12 kat daha fazla riskin olduğunu ve şehir şebeke suyunun *H. pylori* infeksiyonunun önemli bir kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Kuyu suları, akarsular ve su dağıtım şebekesinin herhangi bir noktasında meydana gelen biofilm tabakalarında, birçok patojen mikroorganizma gibi, *H. pylori*'nin varlığı da bildirilmiştir (65). Park ve ark. (53), dünyanın her tarafında su dağı-

tım sistemlerinde bulunabilecek biofilm tabakalarında *H. pylori*'nin olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Linke ve ark. (45), içme sularında meydana gelen biofilmlerden kokoid formdaki *H. pylori*'yi tespit etmede real-time PCR'in oldukça kullanışlı olduğunu ve sulardaki biofilmlerin *H. pylori*'nin bir rezervuarı veya vektörü olabileceğini bildirmişlerdir.

Gıdalar *H. pylori* bakımından potansiyel bir kaynak olarak kabul edilmektedir (51, 66). Analiz edilen başlıca gıdalar et, süt ve sebzelerdir (65). Begue ve ark. (3), Peru'da çocuklarda *H. pylori* infeksiyonunun oluşumunda cinsiyet, yoğun nüfus, içme suyu kaynakları ve evcil hayvanlarla bir arada kalmanın herhangi bir etkisinin bulunmadığını; infeksiyon prevalansının sokaklarda hijyenik olmayan şartlarda hazırlanan gıdaları sık tüketenlerde arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, hijyenik olmayan koşullarda hazırlanan gıdaların gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori*'nin taşınmasında muhtemel bir kaynak olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Hayvanlar vasıtasıyla meydana gelen zoonoz bulaşma da önem arz etmektedir. Jenkins ve Basset (36), *Helicobacter* infeksiyonlarının insanlara evcil hayvanlar vasıtasıyla bulaşabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kediler genellikle *H. felis* ve *H. heilmannii* ile enfekte bulunmuşken (36), *H. pylori* bazı kedilerde tespit edilmiştir (29, 36). Kedi sahipleri kedi beslemeyenlerle kıyaslandığında, kedi sahiplerinin *H. pylori*'ye karşı antikör taşıdıkları tespit edilmiştir (36). Handt ve ark. (29), morfolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler ile yağ asitleri ve 16S rRNA analiziyle 5 kedide, histolojik muayene ile 15 kedide *H. pylori* saptamışlardır. Araştırmacılar evcil kedilerden *H. pylori* izolasyonunun, bakterinin zoonotik bir patojen olduğunu gösterdiğini ve kedilerden insanlara taşınmanın olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Goodman ve ark. (24), koyunlarla temas halinde olan çocuklarda infeksiyon prevalansının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim Dore ve ark. (11), inceledikleri 20 koyun dokusunun %30'unda *H. pylori* DNA'sını tespit etmişlerdir. Dore ve ark. (10), klinik olarak mide rahatsızlığı semptomları bulunmayan koyunlarda *H. pylori* prevalansının %98 olarak tespit edildiğini, pastörize edilmemiş koyun sütlerinin *H. pylori* infeksiyonunun taşınmasında ara bir kaynak olabileceğini bildirmişlerdir. Dubois ve ark. (13), 26 Rhesus maymununu *H. pylori* spesifik immunoglobulin düzeyleri bakımından incelemişler ve 13 maymundan *H. pylori*, 9 maymundan *Gastrospiralum hominis* ve 3 maymundan da her ikisi bakımından pozitif sonuçlar elde etmişlerdir. Et endüstrisi çalışanları, veterinerler ve diğer ilgili gruplarda yüksek oranlarda görülmesi; bulaşmanın hayvansal kaynaklı olabileceğine dair epidemiyolojik verileri desteklemektedir (25).

Zoonoz bulaşma yönündeki bulgulara karşın, Brown ve ark. (7), Çin'de *H. pylori* prevalansının yüksek olduğu bir bölgede, çocukluk ve yetişkinlik dönemleri boyunca evcil hayvanlarla temasla *H. pylori* prevalansı arasında bir ilişkinin olabileceğini gösteren herhangi bir bulgu olmadığını ve Çin'in bu kırsal kesiminde, evcil kedileri de içeren zoonotik bir bulaşmanın bir yol olamayacağını ileri sürmüşlerdir. Stevenson ve ark. (60), ruminantlarda bakterinin izole edilmediğini ve elde ettikleri bu bulgunun, ruminantların gastrointestinal sistemlerinin *H. pylori*'nin kolonizasyonu için tek mideli hayvanların mideleri kadar uygun olmadığını gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Ev sinekleri, gelişmekte olan ülkelerde, *H. pylori*'nin taşınmasında potansiyel bir vektördür (20, 21). Ev sineklerinin bağırsaklarında *H. pylori*'yi canlı olarak taşıdıkları tespit edilmiştir (21). Imamura ve ark. (35), *H. pylori* üreyen agar plaklarına ve *H. pylori* içermeyen steril agar plaklarında tuttukları hamamböceklerini dezenfekte edilmiş alet ve ekipmana, steril gıdalara ve suya bırakarak, bu aletlerin ve gıdaların *H. pylori* ile kontaminasyon düzeylerini incelemişler ve *H. pylori*'yi taşıyan hamamböcekleri vasıtasıyla kontamine olan gıdaların tüketilmesiyle infeksiyonun gerçekleşebileceğini ileri sürmüşlerdir.

İatrojenik bulaşmanın da infeksiyonun taşınmasında önemli olabileceği bildirilmektedir. Endoskopiye alınan kişilerde bulaşmanın meydana geldiği bildirilmektedir (25). Endoskopun kompleks yapısı ve dezenfeksiyonundaki güçlükler; endoskopik muayeneyi takiben insanlarda *H. pylori*'nin yanısıra hepatit B, hepatit C, tüberküloz ve immun sistemi baskılayan viruslar gibi değişik infeksiyöz hastalık etkenlerinin bulaşmasına yol açabilir (6).

### **Su ve gıdalarda canlı kalma özelliği ve bulaşma riski**

Gıdaların ısıtılma tabii tutulması, suların klorlanması *H. pylori*'nin su ve gıdalar vasıtasıyla insanlara bulaşma riskini azaltmaktadır. Ancak sebze ve meyvelerde olduğu gibi gıdaların çiğ olarak tüketilmesi, yarı işlenmiş gıdalarda uzun süre yaşayabilmesi, ısıtılma sonrası gıdaların kontaminasyonu, suların temizlik ve dezinfeksiyonunun tam olarak yapılmaması, meyve ve sebze üretiminde insan ve hayvan dışkısının gübre olarak kullanılması ve kontamine sularla meyve ve sebzelerin yıkanması infeksiyon riskini arttıran faktörlerdir.

Gıda patojenleri gıdalar vasıtasıyla insanları enfekte edebilmek için gıda maddelerinde uzun süre yaşamak zorundadırlar. Gıdalar vasıtasıyla *H. py-*

*lori*'nin taşınabileceğinin belirlenmesi söz konusu olduğunda; *H. pylori*'nin canlı kalma özellikleri, diğer bazı gıda patojenlerinde olduğu gibi, gıdada çoğalma özelliklerinden çok daha fazla önem arz etmektedir. Bu bilgi aynı zamanda *H. pylori*'nin infeksiyon dozunun oldukça düşük olması dolayısıyla da önemlidir (55).

Gomes ve Martinis (22), hijyenik kalitesi düşük suların bakterinin taşınmasında önemli bir araç olduğu ve kontamine gıdaların *H. pylori*'nin epidemiyolojisinde yer aldığı hipotezlerini güçlendirdiğini bildirmişlerdir. West ve ark. (69), *H. pylori*'nin sularda uzun süre yaşamasının çeşitli fiziksel değişkenlere bağlı olduğunu ve elde ettikleri bulgulara göre *H. pylori*'nin çevresel sularda yaşayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Shahamat ve ark. (58), sulardaki *H. pylori*'nin başlıca sıcaklık olmak üzere fiziksel çevre şartlarına bağlı olarak 20-30 gün yaşayabileceğini bildirmişlerdir. Beneduce ve ark. (4), herhangi bir işlem görmemiş kuyu suyu, filtrasyon ve otoklavla steril edilmiş suyu *H. pylori* ile kontamine ederek 5°C ve 25°C'de muhafaza etmişlerdir. Araştırmacılar hem *H. pylori* ve hem de *E. coli*'nin işlenmemiş sularda, steril edilen sulara göre daha az yaşadığını, her iki bakterinin de filtrasyonla steril edilen suda otoklavda steril edilene göre daha uzun süre yaşadığını, ayrıca *H. pylori*'nin 5°C'de bekletilen suda, daha yüksek sıcaklık derecelerinde bekletilen sudan çok daha uzun süre yaşayabildiğini belirlemişlerdir.

Stevenson ve ark. (60), 4.6 log<sub>10</sub> kob/g düzeyinde kontamine edilen sığır etlerinde bu sayının karıştırma, parçalama ve paketleme işlemleri ile 1.3 log<sub>10</sub> kob/g- 3.3 log<sub>10</sub> kob/g arasında değerlere düştüğünü, soğutulmuş ve dondurulmuş muhafaza edilen sığır etlerinde *H. pylori*'nin sayısında 9 günlük muhafazada önemli düşüşlerin olduğunu ve saptanabilme alt limiti olan 1 log<sub>10</sub> kob/g seviyesinin altına düştüğünü tespit etmişlerdir. Poms ve Tatini (54), *H. pylori*'nin yoğurttta 1 gün, tavuk etinde 3 gün ve pastörize sütlerde 7 gün canlı kaldığını saptamışlardır. Yamaguchi ve ark. (70), anaerobik şartlarda 15-35 gün inkübe edilen *H. pylori*'nin Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yapılan ön inkübasyon sonrasında kanlı agarda ürediğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bakterinin anaerobik şartlardan fazla etkilenmediğini, anaerob inkübasyon sonrasındaki üreme üzerinde inkübasyon süresi ve bakterinin konsantrasyonunun önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Nitekim Stevenson ve ark. (60), vakumlu veya vakumsuz paketlemenin *H. pylori*'nin canlılığı üzerinde çok az bir etkisinin bulunduğunu, kıymalardaki başlangıç *H. pylori* sayısının (3.3log<sub>10</sub> kob/g), soğuk hava deposunda bekletilenlerde 6. gün sonunda 1.4 log<sub>10</sub> kob/g'a, dondurulan kıyma-

larda ise 6. gün sonunda  $0.5 \log_{10}$  kob/g'a düştüğünü bildirmişlerdir. Jiang ve Doyle (37), otoklav edilmiş ette 3 gün, otoklav edilmiş kıymada 3-7 gün arasında geliştiğini, fakat iyonize radyasyon ile sterilize edilmiş kıymada 7. günde gelişmediğini saptamışlardır. Buna karşın pH'nin 5.5'e ayarlanmasıyla iyonize radyasyon ile sterilize edilmiş kıymada 7. günde yaklaşık  $2 \log_{10}$  düzeyinde geliştiğini belirlemişlerdir. West ve ark. (69), *H. pylori*'nin fizyolojik tuzlu suda (0.15 M), 0.5 veya 0.6 M tuz konsantrasyonuna göre daha uzun süre yaşadığını bildirmişlerdir.

Gıdaların hazırlanması sırasında uygulanan ısı işlemler (örneğin sütün pastörizasyonu) *H. pylori*'yi tahrip etsede sekonder bir kontaminasyon muhtemeldir (54). Nitekim Quaglia ve ark. (55) sütün üretim sırasında yada paketi açıldıktan sonra hijyen şartlarının yetersizliğinden dolayı kontamine olabileceğini bildirmişlerdir. Quaglia ve ark. (55), UHT ve pastörize sütleri sırasıyla  $10^5$  ve  $10^6$  düzeylerinde kontamine ettikten sonra  $4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza etmişlerdir. UHT sütlerde 12. günde  $10^1$  kob/ml düzeylerinde olduğunu, 13. günde izole edilmediğini; pastörize sütlerde 9. günde  $10^1$  kob/ml düzeylerinde bulunduğunu, 10. günde ise izole edilmediğini bildirmişlerdir. Fan ve ark. (17),  $100^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika kaynatılan süt ve  $121^\circ\text{C}$ 'de 20 dakika sterilize edilen çeşme suyunu *H. pylori* ile kontamine ederek  $4^\circ\text{C}$  ve  $25^\circ\text{C}$ 'de muhafaza etmişlerdir. Araştırmacılar  $4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen sütte 10 gün, çeşme suyunda 4 gün süreyle tespit edebilecek düzeyde kaldığını, çeşme suyu ve sütün bakterinin taşınmasında rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Gomes ve Martinis (23),  $10^6$  kob/g düzeyinde kontamine ettikleri marul ve havuçta klinik izolat olan *H. pylori* HP1 suşunun, antibiyotik katılmış Columbia blood agarda 72 saate kadar, antibiyotik katılmamış aynı agarda 96 saate kadar tespit edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *H. pylori*'nin gıda yoluyla bulaşmasının göz ardı edilmesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

### Su ve gıdalardan izolasyonu güçleştiren durumlar

*H. pylori*'nin mide dokuları dışında diğer örneklerden izolasyonu oldukça güçtür (66). İzolasyonundaki yetersizlik; çevresel şartlara maruz kaldığı zaman, morfolojisi, metabolizması ve üreme özelliklerinde gözlemlenen değişikliklerden kaynaklanmaktadır (5). Gıdalarda ve çevrede bakterinin vejetatif formunu etkileyen olumsuz çevresel faktörler; metabolik aktivitenin azalmış olduğu bir hücre durumu olan VBNC forma geçmesine sebep olur. *H. pylori* kültür şartlarına da oldukça yüksek bir

duyarlılık gösterir. Dolayısıyla çevre ve gıdadan izolasyonu genellikle VBNC durumuna geçmesinden dolayı engellenir. VBNC formundaki hücrelerin metabolik olarak canlı oldukları fakat bu durumda bölünme gerçekleştirmedikleri ve dolayısıyla kolonilerin plaklarda gelişmedikleri bildirilmiştir (66). Buna karşın, *H. pylori*'nin VBNC formunun,  $4^\circ\text{C}$ 'de belirgin düzeyde aktif olduğu ve bazal respirasyonu sürdürdüğü saptanmıştır (5).

Enroth ve Engstrand (15), farklı düzeylerde kontamine ettikleri su ve dışkıda *H. pylori*'nin mililitrede  $10^2$  düzeyinde 3 gün,  $10^4$  düzeyinde 6 gün,  $10^6$  düzeyinde 10 gün tespit edilebileceğini bildirmişlerdir. Poms ve Tatini (54), *H. pylori* ile kontamine ettikleri kıvrıkcık marul ve tavuk etinde 2 gün içerisinde önemli oranda meydana gelen azalmaların, bu ürünlerin yüzeyinde oksijen ve kurumaya karşı bakteriyi koruyabilecek bir yapının olmamasından kaynaklandığını, halbuki araştırmada kullandıkları diğer gıdalardan tofu, su ve sütteki sıvı fazın *H. pylori*'yi oksijen ve kurumaya karşı koruduğunu ileri sürmüşlerdir. Buck ve Oliver (8), ispanağın kontaminasyonundan sonra mikrobiyolojik yöntemle *H. pylori* izolasyonunun çok zor olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar floresan ışığa maruz bırakıldıktan sonra hızla VBNC formunun geliştiğini, bu bulgunun güneş ışığına maruz kalan patojenin izole edilmesindeki güçlükleri desteklediğini ileri sürmüşlerdir. Yamaguchi ve ark. (70), mikroaerobik şartlarda  $37^\circ\text{C}$ 'de 3-4 gün ve bunu takiben anaerobik şartlarda 1-35 gün inkübe edilen *H. pylori*'nin bu şartlarda uzun süre yaşadığını ancak anaerobik şartlarda inkübasyonun 5. günden sonra bakterilerin kokoid formlarının oranlarının % 100'e ulaştığını, dolayısıyla bu şartlardan *H. pylori*'yi geri elde etmede; ön inkübasyon, gıda özelliği taşımayan solüsyonlar ve bakteri konsantrasyonunun yüksek olmasının önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Bode ve ark. (5), *H. pylori*'nin antimikrobiyel maddeler karşısında kokoid forma dönüştüğünü ancak kokoid formda üç ay sonrasında dahi canlılığını gösteren temel metabolik faaliyetlerinin devam ettiğini bildirmişlerdir. Sörberg ve ark. (59), *H. pylori*'nin kokoid formunda, metabolik aktivitesinin düşüklüğünü de gösteren ATP içeriğinin, her hücrelerinde basil formundan 1000 kat daha az olduğunu saptamışlardır. Kokoid kültürlerle taze besiyeri ilavesinin 9. ve 10. günlerde ATP düzeyini iki kat artırdığını ancak bu kültürlerde uzayan inkübasyon süresince kokoid formdan basil formuna bir geçişin olmadığını da bildirmişlerdir. Enroth ve Engstrand (15), kokoid formdaki *H. pylori*'nin antijenik yapı ve DNA içeriklerinin farklı olabileceğini ve dolayısıyla immunomanyetik ayırma ve PCR ile tespit edilmesinin basil-kokoid formundan daha zor olduğunu ileri sürmüşlerdir.

### Su ve gıdalardaki varlığının belirlenmesinde kullanılan metotlar

*Helicobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonlarında mikrobiyolojik, serolojik, PCR ve ATP Bioluminesans yöntemlerinin kullanıldığı bildirilmektedir (66). Kokoid görünümdeki VBNC formda canlılığını devam ettirmesi ve VBNC forma geçtikten sonra izolasyonunda yaşanan güçlükler gibi birçok sebepten dolayı *H. pylori*'nin izolasyonunda kullanılacak metotların seçilmesine çok özen gösterilmelidir. Çevresel kaynaklar, su ve gıdalardan izolasyonda mikrobiyolojik tekniklerin yanı sıra, VBNC formların izolasyonu için immuno manyetik ayırma, PCR, immuno manyetik ayırma-PCR ve prob hibridizasyon yöntemleri kullanılmıştır.

### Klasik mikrobiyolojik metotlar

Gıdalarda *H. pylori*'nin yaşama kabiliyeti ve varlığını tespit etmek amacıyla birçok araştırmacı tarafından klasik mikrobiyolojik metotlar kullanılmıştır. *H. pylori*'nin mideden klasik mikrobiyolojik yöntemlerle izolasyonunda, midenin düşük pH'lı ortamında çok az sayıda kontaminant floranın yaşayabilmesinden dolayı selektif besiyerlerinin kullanılmasına gerek duyulmamıştır (49). Ancak gıdalardan izolasyonunda, ortamdaki kontaminantları ve diğer bakterileri inhibe etmek için, selektif suplement ve antibiyotik kombinasyonlarının katıldığı zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılır (44). İzolasyonunda yaşanan bu güçlükler karşın, kültür sonrası bakterinin koloni morfolojisi ve bazı enzimleri tespit etmek amacıyla uygulanan üreaz, katalaz ve oksidaz gibi basit testler ve mikroskopta bükük çubuk görünümü yardımıyla kolayca tanımlanabilmektedir (44, 60).

Koneman ve ark. (41), mikroaerobik (%10 CO<sub>2</sub>, % 5 O<sub>2</sub> ve %85 N<sub>2</sub>) ortamda gelişebildiğini, yüksek rutubetin gelişmeyi desteklediğini ve kan içeren katı besiyerlerinde küçük, yarı şeffaf, gri koloniler oluşturduklarını bildirmişlerdir. Holt ve ark. (33), brain heart infusion broth (BHI) ve diğer sıvı ortamlarda, çalkalanmadıkça, üremenin gerçekleşebileceğini, BHI agar ve chocolate agarda ise 2-5 gün içerisinde üremenin olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *H. pylori* kolonilerinin pigmentless, yarı şeffaf ve 1-2 mm çapında olduğunu, optimum 37°C'de gelişebildiğini, 30°C'de de ürediğini fakat 25°C'de üreyemediğini, 40°C'de çeşitli üremeler ortaya çıktığını, %10'luk CO<sub>2</sub>'lu ve anaerob ortamlarda ise farklı üremelerin olabileceğini bildirmişlerdir. Stevenson ve ark. (60), perakende olarak satılan ve deneysel olarak kontamine edilen etlerde bakterinin varlığını belirlemede *Helicobacter pylori* Special Peptone agar (HPSPA; 10g pepto-

ne, 15g granul agar, 5g sodyum klorür, 5g maya ekstraktı, 5g sığır eti ekstraktı ve 0.5g purüvik asit sodyum tuzu) ve *Helicobacter pylori* Special Peptone broth (HPSPB) kullanmışlardır. Hem brothun hemde agarın bileşimine antibiyotik kombinasyonu (vancomycin 10mg/l, amphotericin 5mg/l, cefsulodin 10mg/l, polymyxin B sulfate 31,000IU/l, trimethoprim 40mg/l ve sulfamethoxazole 20mg/l) ilave etmişlerdir. Poms ve Tatini (54), %5 defibrine at kanı ile zenginleştirilmiş tryptic soy agarı selektif olmayan besiyeri olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar %5 oranında at kanının yanı sıra antibiyotik kombinasyonu (30mg/l colistin methanesulfonate, 100mg/l cycloheximide, 30mg/l nalidixic acid, 30mg/l trimethoprim ve 10mg/l vancomycin) ilave edilen Wilkins-Chalgeren agarı çeşitli gıdalardan *H. pylori*'yi izole etmek amacıyla selektif besiyeri olarak kullanmışlar ve oldukça selektif olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Quaglia ve ark. (56), 25 ml süt numunesinden izolasyon için %5 at serumu ile benzer antibiyotik kombinasyonunu içeren Wilkins-Chalgeren Anaerob Broth ve agarda mikroaerobik ve anaerob koşullarda 37°C'de 7 gün inkübe etmişlerdir. Buck ve Oliver (8), Brucella blood agar (% 5 at serumu ve 10mg/l vancomycin, 5mg/l trimethoprim ve 2500IU/l polymyxin B sulfate ilaveli) ve Wilkins-Chalgeren blood agarda (% 5 koyun kanı ve 30mg/l colistin methanesulfonate, 100 mg/l cycloheximide, 30 mg/l nalidixic acid, 30 mg/l trimethoprim ve 10 mg/l vancomycin ilaveli) 37°C'de %7.5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda 7-10 gün inkübe etmişlerdir. Stevenson ve ark. (61), *H. pylori*'nin izolasyonunda Muller-Hinton broth, BHI broth ve HPSPB sıvı besiyerlerinin bakterinin gelişmesi yönünde birbirlerine üstün özelliklerinin bulunmadığını ve inkübasyon sırasında çalkalamanın da üreme üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını, benzer şekilde Columbia agar, Muller-Hinton agar, modifiye Glupczynski'Brussels Campylobacter charcoal agar, Johnson-Murano agar ve HPSPA'nın *H. pylori*'yi izole etmede birbirlerine üstün özelliklerinin saptanmadığını bildirmişlerdir. Gomes ve Martinis (23), Columbia blood agar ve HPSPA'yı antibiyotik ilaveli (vancomycin 10mg/l, amphotericin 5mg/l, cefsulodin 10mg/l, polymyxin B sulfamethoxazole 20mg/l) ve ilavesiz kullanmışlardır. Araştırmacılar antibiyotik kombinasyonu katılan besiyerleriyle, kontamine edilmiş havuç ve maruldan 72 saate kadar, antibiyotik katılmamış besiyerlerinde 120 saate kadar bakterinin mikrobiyolojik incelemelerde tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Stevenson ve ark. (62), besiyerinin pH'sı ayarlanarak yapılan denemelerde; *H. pylori*'nin en iyi pH 5.5'in altında ürediğini, ancak pH 7'de 1mm olarak tespit edilen koloni çapının belirgin bir şekilde pH 5'te belirgin bir şekilde 0.8 mm'ye düştüğünü, pH



4.5'te ise herhangi bir üreme olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar pH'sı düşürülen besiyerlerine farklı konsantrasyonlarda üre ilavesinde en iyi üremenin pH 4.5'te gerçekleştiğini ancak koloni çaplarının 0.7-0.9 mm'ye düştüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca besiyerine TTC ilavesinin *H. pylori*'nin canlılığını fazla etkilemediğini ancak koloni çapının 0.7-0.9 mm'ye düşmesine sebep olduğunu, bundan dolayı TTC'nin *H. pylori* izolasyonunda kullanılan besiyerlerine eklenmemesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

#### **Immuno-magnetik ayırma ve moleküler teknikler**

Moleküler teknikleri daha etkin kılabilmek amacıyla immuno-magnetik ayırma tekniği, az sayıdaki bakterinin olduğu, özellikle bakterinin sular ve bazı gıdalardaki varlığının belirlenmesi amacıyla birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (34, 66). McDaniels ve ark. (50), *H. pylori* üreaz genini (üreA) hedef alan real-time PCR analizi ile sulara *H. pylori*'nin varlığını tespit etme duyarlılığının her bir filtre için ortalama 10 bakteri hücresi olduğunu ve bu metodun içme sularında *H. pylori*'nin varlığını hızlı bir şekilde belirlemede kullanışlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

#### **Otoradyografi**

Teknik, metabolik olarak aktif fakat izole edilemeyen *H. pylori*'nin sularındaki varlığını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir (58). Sulara, başlıca sıcaklık, antagonizm gibi birçok etki karşısında *H. pylori*'nin yaşadığını tespit etmek amacıyla, [<sup>3</sup>H] thymidine'nin hücre içersine alınması temeline dayanan bu teknik bazı araştırmacılar tarafından kullanılmıştır (58, 66).

#### **Mikroskopik teknik**

Hegarty ve ark. (31), sulara *H. pylori*'nin varlığını tespit etmek amacıyla hücreleri indirekt floresan antikor boyama tekniği ile boyayarak mikroskopta en az 200 alanı saymışlardır. Araştırmacılar yöntemin minimum belirleyebilme seviyesinin 3000 bakteri olduğunu bildirmişlerdir.

#### **ATP biyoluminesans**

Hücredeki canlılığı, adenosine 5'-triphosphate düzeyini lüsiferin-lüsiferaz biyolojik ışımaya reaksiyonuyla belirleme prensibine dayanmaktadır (66).

#### **Sonuç**

Kolonize olduğu bireylerde birçok enfeksiyonda tespit edilen *H. pylori* Dünya Sağlık Örgütü tarafından I. sınıf karsinogen olarak sınıflandırılmıştır. *H. pylori*; *E.coli* O157:H7, *S. typhimurium* Definitive Type 104, *C. parvum*, *C. cayetanensis*, *A.butzleri* gibi yeni olarak ortaya çıkmış gıda kaynaklı patojenler arasında önemli bir potansiyele sahip olabileceği bildirilesede taşınma yolu tam olarak bilinmediği için henüz kesin olarak su ve gıda kaynaklı bir patojen olarak sınıflandırılmamıştır. Buna karşın bakterinin taşınması ve bulaşmasında su ve gıda maddelerinin bir vasıta olabileceği fikrini destekleyici bulguların yanı sıra birlikte çeşitli gıda maddelerinde 12 gün ve sulara 20-30 gün sonunda saptanabildiği bildirilmektedir. Gerek fekal-oral bulaşma gerekse su ve gıdalar aracılığıyla bulaşmada hijyenik olmayan koşullar önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra gıdaların çiğ olarak tüketilmesi, yarı işlenmiş gıdalarda uzun süre yaşayabilmesi, ısıl işlem sonrası gıdaların kontaminasyonu, suların temizlik ve dezenfeksiyonunun tam olarak yapılmaması, sebze üretiminde insan ve hayvan dışkısının gübre olarak kullanılması ve kontamine sularla meyve ve sebzelerin yıkanması enfeksiyon riskini arttıran faktörlerdir.

*H. pylori*'nin mide dokuları dışında diğer örneklerden izolasyonundaki güçlükler; üreme özelliklerine uygun olmayan çevresel şartlara maruz kaldığı zaman, morfolojisi, metabolizması ve VBNC durumuna geçmesi gibi üreme özelliklerinde gözlemlenen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Kokoid görünümdeki VBNC formda canlılığını devam ettirmesi ve VBNC forma geçtikten sonra izolasyonunda yaşanan güçlükler gibi birçok sebepten dolayı *H. pylori*'nin izolasyonunda kullanılacak metodların seçilmesine çok özen gösterilmelidir.

#### **Kaynaklar**

1. Baker KH, Hegarty JP, Redmond B, Reed NA, Herson DS. Effect of oxidizing disinfectants (chlorine, monochloramine, and ozone) on *Helicobacter pylori*. Appl Environ Microbiol 2001; 68 (2): 981-4.
2. Banatvala N, Lopez CM, Owen R, Abdi Y, Davies G, Hardie J, Feldman R. *Helicobacter pylori* in dental plaque. The Lancet 1993; 341 (6): 380.
3. Begue FE, Gonzales JL, Correa-Gracian H, Tang SC. Dietary risk factor associated with the transmission of *Helicobacter pylori* in Lima, Peru. Am J Trop Med Hyg 1998; 59: 637-40.

4. Beneduce L, Tarantino D, Spano G, Libergoli M, Labonia M, Massa S. Survival of *Helicobacter pylori* in well water. *World J Microbiol Biotechnol* 2003; 19: 505-8.
5. Bode G, Mauch F, Malfertheiner P. The coccoid forms *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability. *Epidemiol Infect* 1993; 111: 483-90.
6. Brown LM. *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-97.
7. Brown LM, Thomas TL, Ma JL, Chang YS, You WC, Liu WD, Zhang L, Gail MH. *Helicobacter pylori* infection in rural China: Exposure to domestic animals during childhood and adulthood. *Scand J Infect* 2001; 33: 686-91.
8. Buck A, Oliver JD. Survival of spinach-associated *Helicobacter pylori* in the viable but nonculturable state. *Food Cont* 2010; 21: 1150-4.
9. Chengyou W, Zhang K, Fengpan K, Jiang J, Chang YS, Perez-Perez GI, Liu WD, Ma JL, Gail MH, Blaser MJ, Fraumeni JF, Xu GW. *Helicobacter pylori* prevalence and CagA status among children in two counties of China with high and low risks of gastric cancer. *Ann Epidemiol* 2001; 11: 543-6.
10. Dore MP, Sepulveda AR, Osato MS, Realdi G, Graham DY. *Helicobacter pylori* in sheep milk. *The Lancet* 1999; 354: 132.
11. Dore MP, Sepulveda AR, Zimaity HE, Yamaoka Y, Osato MS, Mototsugu K, Nieddu AM, Realdi G, Graham DY. Isolation of *Helicobacter pylori* from sheep-implications for transmission to humans. *The Am J Gastroenter* 2001; 96: 1396-401.
12. Drumm B, Perez GIP, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *The New Eng J Med* 1990; 332: 359-63.
13. Dubois A, Fiala N, Heman-Ackah LM, Drazek S, Tarnawski A, Fischebein WN, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys: A model for spiral bacteria infection in humans. *Gastroenter* 1994; 106: 1405-17.
14. Dunn BE, Cohen H, Blaser M. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 720-41.
15. Enroth H, Engstrand L. Immunomagnetic separation and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in water and stool specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2162-5.
16. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 615-40.
17. Fan XG, Chua A, Li TG, Zeng QS. Survival of *Helicobacter pylori* in milk and tap water. *J Gastroenter Hep* 1998; 13: 1096-8.
18. Ferguson DA, Li C, Patel NR, Mayberry WR, Chi DS, Thomas E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2802-4.
19. Figueiredo C, Machado JC, Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2005; 10: 14-20.
20. Frenck Jr RW, Clemens J. *Helicobacter* in the developing countries. *Microbes and Infections* 2003; 5: 705-13.
21. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol Ther* 2002; 16 (suppl 1): 3-15.
22. Gomes BC, Martinis ECP. The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples. *Food Cont* 2004; 15: 397-403.
23. Gomes BC, Martinis ECP. Fate of *Helicobacter pylori* artificially inoculated in lettuce and carrot samples. *Brazilian J Microbiol* 2004; 35: 145-50.
24. Goodman KJ, Correa P, Tengana Aux HJ, Ramirez H, Delany JP, Pepinosa OG, Quinones ML, Para TC. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: A population based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 290-9.
25. Goodman KJ, Correa AP. The transmission of *Helicobacter pylori*. A critical review of the evidence. *Int J Epidemiol* 2001; 24: 875-7.
26. Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR, Waters TE, Anderson CR, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1127-31.

27. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol 1986; 39: 353-65.
28. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, 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. Respecyively. Int J Syst Bacteriol 1989; 39: 397-405.
29. Handt LK, Fox JG, Dewhirst FE, Fraser GJ, Paster BJ, Yan LL, Bozmiarek H, Rufo R, Stalis IH. *Helicobacter pylori* isolated from domestic cat: Public health implications. Infection and Immunity 1994; 62 (6): 2367-74.
30. Hara K, Morita Y, Kamihata H, Iwasaka T, Takahashi H. Evidence for infection with *Helicobacter pylori* patients with acute myocardial infarction. Clinica Chimica Acta 2001; 313: 87-94.
31. Hegarty JP, Dowd MT, Baker KH. Occurence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. J Appl Bacteriol 1999; 87: 697-701.
32. Hisada M, Lee MG, Hanchard B, Owens M, Song Q, Doorn LJV, Cutler A, Gold BD. Charactersitics of *Helicobacter pylori* infection in Jamaican adults with gastrointestinal symptoms. J Clin Microbiol 2001; 39(1): 212-6.
33. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Aerobic/Microaerophilic, Motile, Helical/Vibroid Gram-Negative Bacteria. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Baltimore: Williams&Wilkins, 1994; pp. 42-3.
34. Hulten K, Han SW, Enroth H, Klein PD, Opekun AR, Gilman RH, Evans DG, Engstrand L, Graham D, El-Zaatari FAK. *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. Gastroenter 1996; 110: 1031-5.
35. Imamura S, Kita M, Yamoka Y, Yamamoto T, Ishimaru A, Konishi H, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Okanoue T, Imanishi J. Vector potential of cockroaches for *Helicobacter pylori* infection. The Am J Gastroenter 2003; 98: 1500-3.
36. Jenkins CC, Basset JR. *Helicobacter* infection. Small Anim Gastroenter 1997; 19: 267-79.
37. Jiang X, Doyle MP. Optimizing enrichment culture conditions for detecting *Helicobacter pylori* in foods. J Food Protec 2002; 65: 1949-54.
38. Karita M, Teramukai S, Matsumoto S. Risk of *Helicobacter pylori* trasmission from drinking well water is higher than that from infected intrafamilial members in Japan. Diges Dis Sci 2003; 48: 1062-7.
39. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun A, Smith EOB. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian childeren. The Lancet 1991; 337: 1503-6.
40. Komoto K, Haruma K, Kamada T, Tanaka S, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G, Talley NJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric neoplasia correlations with histological gastrit and tumor histology. The Am J Gastroenter 1998; 93: 1271-6.
41. Koneman MD, Schreckenberger PC, Allen SD, Winn WC, Janda WM. Curved Gram-Negative Bacilli and Oxidase-Positive Fermenters: *Campylobacter* and *Vibrio Species*. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fourth Edition. Philadelphia: JB Lippincott Company,1992; pp. 188-96.
42. Krajden S, Fuska M, Anderson J, Kempston J, Boccia A, Petrea C, Babida C, Karmali M, Penner JL. Examination of human stomach biopsies, salvia, and dental plaque for *Campylobacter pylori*. J Clin Microbiol 1989; 27: 1397-8.
43. Kusano K, Tokunaga O, Ando T, Inokuchi A. *Helicobacter pylori* in the palatine tonsils of patients with IgA nephropathy compared with those of patients with recurrent pharynotonsillitis. Human Pathology 2007; 38: 1788-97.
44. Lee A. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenter 1994; 29: 2-6.
45. Linke S, Lenz J, Gemein S, Exner M, Gebel J. Detection of *Helicobacter pylori* in biofilms by real-time PCR. Int J Hyg Environ Health 2010; 213: 176-82.

46. Lopez-Carillo L, Torres-Lopez J, Galvan-Portillo M, Munoz L, Lopez-Cervantes M. *Helicobacter pylori*-CagA seropositivity and nitrite and ascorbic acid food intake as predictors for gastric cancer. *Eur J Cancer* 2004; 40: 1752-9.
47. Lorca GL, Wadström T, Valdez GF, Ljungh A. *Lactobacillus acidophilus* autolysins inhibit *Helicobacter pylori*. *Current Microbiol* 2001; 42: 39-44.
48. Malaty HM, Nyren O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003; (8) (suppl 1): 8-12.
49. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1311-5.
50. McDaniels AE, Wymer L, Rankin C, Haugland R. Evaluation of quantitative real time PCR for the measurement of *Helicobacter pylori* at low concentrations in drinking water. *Wat Res* 2005; 38: 4808-16.
51. Meng J, Doyle MP. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bull Inst Pasteur* 1998; 96: 151-64.
52. Papini E, Zoratti M, Cover TL. In search of the *Helicobacter pylori* VacA mechanism of action. *Toxicon* 2001; 39: 1757-67.
53. Park SR, Mackay WG, Reid DC. *Helicobacter* sp. Recovered from drinking water biofilm sampled from a water distribution system. *Wat Res* 2001; 35 (6): 1624-6.
54. Poms RE, Tatini SR. Survival of *Helicobacter pylori* in ready-to-eat foods at 4°C. *Int J Food Microbiol* 2001; 63: 281-6.
55. Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Parisi A, Firinu B, Lorusso V, Celano GV. Survival of *Helicobacter pylori* in artificially contaminated ultra high temperature and pasteurized milk. *Food Microbiol* 2007; 24: 296-300.
56. Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Parisi A, Patrona R, Ranieri G, Rella A, Celano GV. High occurrence of *Helicobacter pylori* in raw goat, sheep and cow milk inferred by glmM gene: A risk of food-borne infection? *Int J Food Microbiol* 2008; 124: 43-7.
57. Rolle-Kampczyk EU, Fritz GJ, Diez U, Lehmann I, Richter M, Herbarth O. Well water-one source of *Helicobacter pylori* colonization. *Int J Hyg Environ Health* 2004; 207: 363-8.
58. Shahamat M, Mai U, Paszko-Kolva C, Kessel M, Colwell RR. Use of autoradiography to assess viability of *Helicobacter pylori* in water. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 1231-5.
59. Sörberg M, Nilsson M, Hanberger H, Nilsson LE. Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid form. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 216-9.
60. Stevenson TH, Bauer N, Lucia LM, Acuff GR. Attempts to isolate *Helicobacter* from cattle and survival of *Helicobacter pylori* in beef products. *J Food Protect* 2000a; 63: 174-8.
61. Stevenson TH, Castillo A, Lucia LM, Acuff GR. Growth of *Helicobacter pylori* in various liquid and plating media. *Let Appl Microbiol* 2000b; 30: 192-6.
62. Stevenson TH, Lucia LM, Acuff GR. Development of selective medium for isolation of *Helicobacter pylori* from cattle and beef samples. *Appl Environ Microbiol* 2000c; 66: 723-7.
63. Tauxe RV, Doyle MP, Kuchenmüller T, Schlundt J, Stein CE. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. *Int J Food Microbiol* 2010; 139 (Supl 1): 16-28.
64. Thomas JE, Gibson GR, Darboe MK, Dale A, Weaver LT. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet* 1992; 340: 1194-5.
65. Vale FF, Vitor JMB. Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: Does food play a role in rural and urban areas. *Int J Food Microbiol* 2010; 138: 1-12.
66. Velazquez M, Feirtag JM. *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. *Int J Food Microbiol* 1999; 53: 95-104.
67. Venter TVD. Emerging food-borne diseases: A global responsibility. Erişim adresi: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/x7133m/x7133m01.pdf>; Erişim tarihi: 22.12.2009

68. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastrit. Lancet 1983; 1273-5.
69. West AP, Millar MR, Tompkins DS. Effect of physical environment on survival of *Helicobacter pylori*. J Clin Pathol 1992; 45: 228-31.
70. Yamaguchi H, Osaki T, Takahashi M, Taguchi H, Kamiya S. Colony formation by *Helicobacter pylori* after long-term incubation under anaerobic conditions. FEMS Microbiol Let 1999; 175: 107-11.

**Yazışma Adresi :**

Prof. Dr. Ahmet GÜNER  
Adres: Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,  
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
42075 Kampus / KONYA  
Tel: 0 332 223 35 62  
Gsm: 0 506 536 46 73  
E-mail: aguner@selcuk.edu.tr