



TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN
ÇEŞİTLİ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI

Merve ÇELENK

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz -2017

TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN
ÇEŞİTLİ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI

Merve ÇELENK

Dumlupınar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Tuba İÇA

Temmuz –2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

Merve ÇELENK'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN ÇEŞİTLİ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI” başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

21/07/2017

(Sınav Tarihi)

Üye: Doç. Dr. Tuba İÇA (Danışman)

Üye: Doç.Dr. Serap SAVAŞAN

Üye: Doç.Dr. Ferdağ ÇOLAK

Fen Bilimleri Enstitüsünün Yönetim Kurulu'nun ... / ... /2017 gün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan intihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının %11 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Doç. Dr. Tuba İÇA

Merve ÇELENK

TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN ÇEŞİTLİ VİRÜLENS ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI

Merve ÇELENK

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2017

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Tuba İÇA

ÖZET

Termofilik *Campylobacter* türleri insanlarda zoonotik kaynaklı enteritlere yol açan, gıda kaynaklı bakterilerdir. En önemli bulaş kaynağı olarak tavuk etleri gösterilmektedir. Etkenlerin patogeneğinde sitoletal distending toksin (CDT) adı verilen virülens faktörler önemli bir yer tutmaktadır.

Bu çalışmada Kütahya ilinde ticari olarak tüketime sunulan 24 adet tavuk etinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*) ve taşıdıkları CDT genleri moleküler olarak ortaya konuldu.

Toplanan 24 adet örnekte, 11 adet (%45.8) *Campylobacter* türü MPZR ile karakterize edildi. Bu etkenler tür bazında değerlendirildiğinde, incelenen örneklerde 7 adet (% 29.2) oranında *C. jejuni*, 4 adet (%16.6) oranında *C. coli* varlığı tespit edildi. *C. lari* ise saptanamadı. *Campylobacter* yönünden pozitif olduğu MPZR ile doğrulanan örnekler *Cdt* genleri yönünden yine MPZR değerlendirildiğinde suşların %90.9'unda *Cdt A* ve *Cdt C* genleri saptanırken, %81.8'inde *Cdt B* geni tespit edildi. *Cdt* genlerinin bakteri türlerine göre dağılımları incelendiğinde *C. jejuni*'de *Cdt A* ve *Cdt C* genlerinin bulunma oranları %85.7, *Cdt B* geninin ise %71.4 olduğu görüldü. *C. coli*'de ise bu üç toksin geninin tüm suşlarda var olduğu (%100) tespit edildi.

Sonuç olarak, Kütahya ilinde satışa sunulan tavuklarda toksin genleri ihtiva eden *Campylobacter* türleri saptanmış olup, bu ürünlerin yeterli ısı işlemi uygulanmadan tüketilmesi durumunda, halk sağlığı için risk taşıyabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: CDT, Tavuk eti, MPZR, Termofilik *Campylobacter*.

DETECTION OF VARIOUS VIRULENCE FACTORS OF THERMOPHILIC *CAMPYLOBACTER* SPECIES

Merve ÇELENK

Biology Department, M. S. Thesis, 2017

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Tuba İÇA

SUMMARY

Thermophilic *Campylobacter* species are foodborne bacteria causing zoonotic enteritis in human. Chicken meat is known as the most important transmission source of *Campylobacter* species. Virulence factor known as cytolethal distending toxin (*Cdt*) has an important role in the pathogenesis of these factors.

In our study, the presence of *Campylobacter* species (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lari*) and *Cdt* genes carried were determined at molecular level on the commercially available 24 pieces of chicken meat in the city Kütahya.

Among the 24 collected samples, 11 (45.8%) of them carrying *Campylobacter* species were characterized by MPCR. When evaluated at the level of species, *C. jejuni* in 7 pieces (29.2 %), *C. coli* in 4 pieces (16.6 %) were detected on worked samples. *C. lari* was not detected in any samples. The samples which were detected positive for *Campylobacter* by MPCR technique, were analyzed for of *Cdt* genes. 90.9 % of strains were found positive for *Cdt A* and *Cdt C*, whereas *Cdt B* gene was detected on 81.8 % of strains. In *C. jejuni*, the existence rates of *Cdt A* and *Cdt C* genes were found to be same as 85.7% and 71.4% for the *Cdt B* gene. All three toxin genes were detected in all strains of *C. coli*.

Consequently, *Campylobacter* species containing toxin genes were found in chickens for sale in Kütahya province and use can concluded that consummation of these products without adequate heat treatment, they could create risk for public health.

Keywords: *Cdt*, Chicken meat, MPCR, Thermophilic *Campylobacter*.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Tuba İÇA'ya teşekkür ederim. Ayrıca öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen annem Nurten ÇELENK'e, her konuda olduğu gibi çalışmalarım boyunca yanımdan hiç ayrılmayan canım babam Kadir Cavit ÇELENK'e, yetişemediğim her durumda yardım eden Melih ÜNVER'e, yüksek lisansım süresince yardımlarını esirgemeyen, özveride bulunan, benim için değeri paha biçilemez olan başta Doç. Dr. Aynur GÜLCAN, Yrd.Doç. Dr. Özlem GENÇ, Uzm. Dr. Evrim AKSU, Mehmet ÖNCEBE, Necmiye DURAK, Hanife ALTINGÖL, Sultan SOLMAZ ve diğer çalışma arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Genel Mikrobiyolojik Özellikler	2
1.1.1. Taksonomi.....	2
1.1.2. <i>Campylobacter</i> türlerinin genetik özellikleri	4
1.1.3. Mikroskopik ve makroskopik morfoloji ve boyanma özellikleri	4
1.1.4. Üreme özellikleri ve fizyolojik karakterleri.....	5
1.2. Virülans Faktörleri	5
1.2.1. Hareket ve kemotaksis	6
1.2.2. İnvazyon ve adhezyon	6
1.2.3. Hücre duvarı	7
1.2.4. Bazı önemli proteinler, toksin ve enzimler	8
1.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Epidemiyolojisi.....	9
1.3.1. Gıdalarda	9
1.3.2. Sularda	10
1.3.3. Hayvanlarda.....	10
1.3.4. İnsanlarda.....	13
1.4. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Neden Olduğu Hastalıklar	15
1.4.1. İnsanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon.....	15
1.5. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Klasik Tanısı	16
1.6. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanısı	17
1.7. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Genotiplendirilmesi	18
1.8. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Antimikrobiyal Duyarlılığı	19
1.9. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Tedavisi.....	20
2. MATERYAL METOD.....	22
2.1. Materyal	22
2.1.1. Örneklerin toplanması	22
2.1.2. Besiyerleri.....	22

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.1.3. Moleküler tanı amacıyla kullanılan primerler	22
2.2. Metod	24
2.2.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin izolasyonu.....	24
2.2.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin ve <i>CDT</i> geninin M-PZR ile Tanısı..	25
3. BULGULAR.....	27
3.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin İzolasyonu	27
3.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin ve <i>CDT</i> Geninin M-PZR İle Tanısı.....	27
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
KAYNAKLAR DİZİNİ	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Tavuk örneklerinin steril filtreli poşet içerisinde stomacherde parçalanması	24
2.2. mCCDA selektif besi yerinde üreyen <i>Campylobacter</i> şüpheli suşların makroskopik morfolojileri	24
3.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin M-PZR sonuçları	27
3.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinde <i>CdtA</i> genlerinin MPZR sonuçları.....	28
3.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinde <i>CdtB</i> genlerinin MPZR sonuçları.....	28
3.4. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinde <i>Cdt</i> genlerinin MPZR sonuçları	29

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>Campylobacter</i> 'lerin sınıflandırılması	3
1.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin konak duyarlılıkları ve yapmış olduğu enfeksiyonlar	15
1.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri.....	17
2.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin M-PZR ile tür düzeyinde identifikasyonunda kullanılan oligonükleotid dizileri	23
2.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinde M-PZR ile <i>CDT</i> varlığının araştırılmasında kullanılan oligonükleotid dizileri.	23
3.1. Kültür işleminde <i>Campylobacter</i> yönünden şüpheli olduğu tespit edilen kolonilerin tür ve <i>Cdt</i> toksin genleri yönünden moleküler tanı sonuçları	29
3.2. M-PZR sonrası <i>Campylobacter</i> türlerinin ve <i>Cdt</i> toksin genlerinin dağılımı (%)	30
4.1. Türkiye'de incelenen tavuk eti örneklerinde termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin bulunma oranları	31
4.2. Bazı ülkelerde tavuk eti örneklerinde termofilik <i>Campylobacter</i> izolasyon oranları	32
4.3. Tavuk karkaslarından izole edilen termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin içermiş olduğu <i>Cdt A</i> , <i>Cdt B</i> ve <i>Cdt C</i> toksin genlerinin dünyadaki durumu.....	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

°C	Derece
bp	Baz çifti
kbp	Kilobaz çifti
µm	Mikrometre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
mL	Mililitre
pmol	pikomol
sn	saniye
dk	dakika
w/v	hacim başına yüzde ağırlık
log	logaritmik
cfu	koloni oluşturma birimi

Kısaltmalar

Açıklama

A	Adenin
AFLP	Çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi
aw	Su aktivitesi
BB	Bolton Besiyeri
CCDA	Kömür kefoperazon deoksikolat agarı
CDT	Hücre ölümünde şişmeye sebep olan toksin
CEB	<i>Campylobacter</i> ile zenginleştirilmiş Besiyeri
D değeri	Desimal indirgeme süresi
DNA	Deoksiribo Nukleik Asit
d-NTP	deoksiniükleotid-trifosfat
ECDC	Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
EFSA	Avrupa Besin Güvenliği Birliği
EPS	Hücre dışı polimerik madde
FAFLP	Floresan ile çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizm analizi
G	Guanin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
GI	Sindirim-Bağırsak yolu
IS	Sokulan diziler
LOS	Lipooligosakkarit
LPS	Lipopolisakkarit
mCCDA	Modifiye Kömür kefoperazon deoksikolat agarı
MEE	Çok bölgeli enzim elektroforezi
MIC	Minimal inhibisyon konsantrasyonu
MLST	Çok bölgeli dizileme tiplendirilmesi
MPZR	Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyon
MPCR	Multiplex Polymerase Chain Reaction
OD	Optik yoğunluk
ORF	Protein kodlayan bölge
PFGE	Atımlı alan Jel Elektroforezi
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele çoğaltılan polimorfizm deoksiribonükleik asit
RALP	Rastgele çoğaltılan uzunluk polimorfizmi
RFLP	restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
S	Sitozin
ST	sekans tipi
T	Timin
TSB	Triptik Soya Besiyeri
TTSS	Tip III sekresyon sistemi
VBNC	Canlı fakat kültüre edilemeyen
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Campylobacter hakkındaki ilk belgeye 1886 yılında rastlanmıştır. Theodore Escherich, kültüre edilemeyen spiral şekilli bakteriler gözlemlemiştir (Vandamme, 2000; Vandamme vd., 2010). 1906 yılında ise *Campylobacter*'ler ilk kez tanımlanmıştır. 1913 yılında McFadyean ve Stockman sığır fetüslerinden bu mikroorganizmayı izole etmiştir (Veron ve Chatelain, 1973). 1927'de Smith ve Orcutt, diyareli kedi dışkısında izole ettikleri bir grup bakteriye *Vibrio jejuni* adını vermişlerdir (Galate, Bangde, 2013). 1944'te Doyle, diyareli domuz dışkısında farklı bir *vibrio* izole etmiş ve bunu *Vibrio coli* olarak tanımlamıştır (Vandamme, 2000; Vandamme vd., 2010). Düşük DNA baz içeriği, fermentatif olmayan metabolizması ve mikroaerofilik özelliğiyle *Campylobacter* cinsi ilk kez 1963 yılında Sebald ve Veron tarafından *Vibrio* cinsinden ayrılarak farklı bir tür olarak değerlendirilmeye başlanmıştır (On, 2001). Skirrow ve arkadaşlarının 1980'li yıllarda selektif besiyerleri kullanarak mikroaerofilik şartlarda *Campylobacter*'leri izole etmeleri ile bu mikroorganizmaların taksonomik, patojenik, fizyolojik ve epidemiyolojik özellikleri ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır.

Campylobacter türleri kompleks gelişme ortamına ihtiyaç duyarlar ve karbonhidratları fermente edemezler. *Campylobacter jejuni* ve *C. coli* yaklaşık 1600-1700 kb genom büyüklüğüne sahiptir. Plasmid ve bakteriyofaj içeren birçok suşu tanımlanmıştır (Taylor, 1992). Spiral şekilli bakteriler olan *Campylobacter*'lerin atmosferik oksijene veya diğer çevresel stres faktörlerine maruz kaldığında kokoid formlara dönüştükleri bilinmekte olup, bu kokoid formun olumsuz çevre koşullarda bakterinin hayatta kalabilmesi için bir uyku evresi olduğu düşünülmektedir (Rollins ve Colwell, 1986). Bu evreye, canlı fakat kültüre edilemeyen form anlamına gelen "Viable but non-culturable form (VBNC)" adı verilmektedir. Bu formun, etkenin bulaşma ve kolonizasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir.

Campylobacteriosis tüm dünyada yaygın bir zoonozdur. Taşıyıcısı başta kanatlılar, ruminantlar ve domuzlar olup, çeşitli hayvanların gastrointestinal ve genital sisteminde kommensal olarak bulunmakta, insanlara hayvan dışkıları ile kontamine olmuş et, süt ve suların tüketimi ile ya da enfekte hayvanlarla temas sonucunda bulaşmaktadır. İnsan patojenleri *C. jejuni* ve *C. coli* akut insan enterokolitlerinin etkenleridir ve çoğu gelişmiş ülkelerdeki gıda kaynaklı ishallerin en yaygın sebeplerindendir (Tauxe, 1992).

Enfekte olmuş besi hayvanlarında *C. jejuni*'nin flora bakterisi gibi davranıp, kontamine gıdalarda da kontaminasyonu destekleyen makroskopik bulguların olmaması, enfeksiyonun gıda yolu ile yayılmasını kolaylaştırmaktadır.

Campylobacter jejuni'nin, 1.64 milyon nükleotidlik genomunun tam dizisinin çıkarılması, bakterinin virulans faktörleri ve yapısal özellikleri ile ilgili araştırmaların hızlanmasına yol açmıştır. *C. jejuni*, *Campylobacter* ailesinin, hakkında en çok çalışılan ve en çok bilgi sahibi olunan türüdür.

Ancak tüm çalışmalara rağmen, bu mikroorganizmanın enfekte olan örnekten izolasyonu ve identifikasyonunu sağlayan, hassas ve hızlı sonuç üretebilen, uygulanabilirliği kolay, standart protokoller oluşturulamamıştır. Değişken genetik yapısı, moleküler yöntemlerin standardizasyonu ve istenen duyarlılıkta sonuçların üretilmesine engel olmuştur.

1.1. Genel Mikrobiyolojik Özellikler

1.1.1. Taksonomi

rRNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda *Campylobacteriaceae* familyası altında yer alan *Campylobacter* cinsinin, 16S-rRNA analiziyle, 3 ribozomal rRNA homolog alt grubunu içerdiği belirlenmiştir (Vandamme ve De Ley 1991; Vandamme ve Goossens, 1992). Buna göre, önceleri *Campylobacter* cinsinin 18 tür, alt tür ve biovardan oluştuğu bildirilmiştir (Stern vd., 1992).

Daha sonra yapılan DNA-rRNA hibridizasyon çalışmalarıyla, *Campylobacter* spp. ile benzer özellik gösteren *Bacteroides* türü (*Bacteroides gracilis*, *Bacteroides ureolyticus*) ile *Wolinella* cinsinin tek türü olan *W. succinogenes* ve *Helicobacter* türlerinin farklı bir taksonomik statüde değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiş ve *C. pylori*, *C. mustelae*, *C. cinaedi* ve *C. fennelliae* türleri *Helicobacter* cinsi içerisine dahil edilmiştir (Vandamme ve Goossens, 1992).

Aerotolerans özellik gösteren *Campylobacter* spp. benzeri organizmalardan *C. nitrofigilis*, *C. cryaerophilus* ve *C. butzleri* ise *Arcobacter* cinsi altında sınıflandırılmıştır (Vandamme ve Goossens, 1992).

Çizelge 1.1. *Campylobacter*'lerin sınıflandırılması.

Domain: *Bacteria*

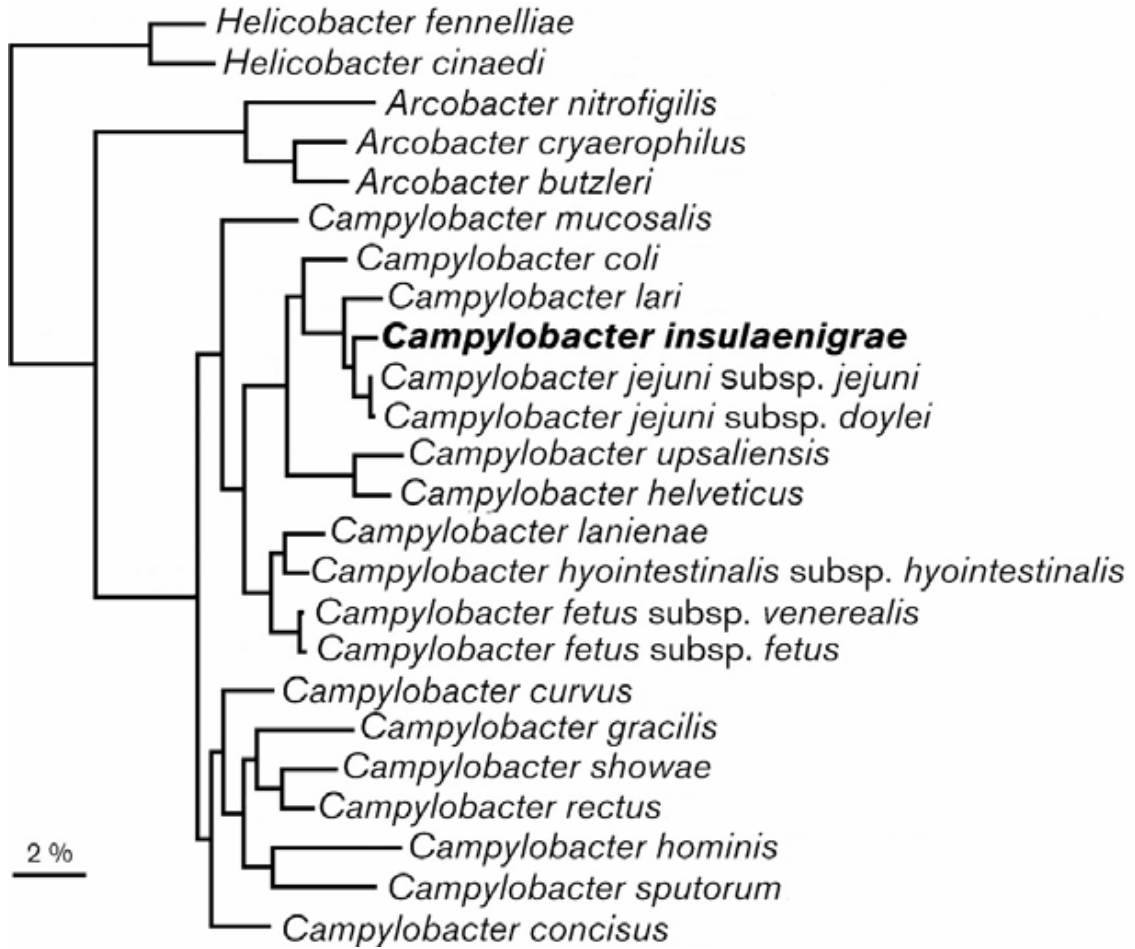
Phylum: *Proteobacteria*

Class: *Epsilonproteobacteria*

Order: *Campylobacterales*

Family: *Campylobacteraceae*

Genus: *Campylobacter*



Campylobacter cinsi içerisinde, insanlarda ishale sebep olan türler dışında, *C. concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. sputorum* ve *C. gracilis* gibi ağız boşluğundan izole edilen, peridontal enfeksiyonlara yol açtığı belirlenen türler de bulunur. *C. helveticus*, *C. hominis*, *C. insulaenigrae*, *C. lanienae*, *C. mucosalis* ve *C. sputorum* biovar *faecalis* türlerinin ise, patojen olup olmadıkları bilinmemektedir. *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* yüksek ısıda üreme kabiliyetlerinden dolayı termofilik kampilobakterler olarak adlandırılırlar.

1.1.2. *Campylobacter* türlerinin genetik özellikleri

Günümüzde DNA sekans analiz ve yöntemi ve multilocus sequence typing (MLTS) yöntemleri ile bazı *Campylobacter jejuni* izolatlarının (NCTC 11168, RM 12-21 ve 81-176) tüm genom analizlerini yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda, *Campylobacter* genomunda, lateral gen transferleri ve homolog rekombinasyonların gerçekleştiği ve buna bağlı olarak, *Campylobacter* genomunun dinamik bir yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir (Parkhil vd., 2000; Ketley vd., 2005). *C. jejuni* 'nin NCTC 11168 suşunun genomu 1,641,481 bp uzunluğunda olup ve 1654 açık okuma bölgesi (ORF) içermektedir. Genomun G+C ortalaması %29±47'dir (Parkhil vd., 2000).

Tüm genom analizini takiben bazı araştırmacılar microarray yöntemi ile çeşitli *C. jejuni* suşlarının genomu ile *C. jejuni* NCTC 11168 suşunun genomunu karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar 1654 gen bölgesinden 1300'ünün tüm serotiplerde ortak olan tür spesifik genler taşıdığını, 354 gen bölgesinin ise suş spesifik olduğunu belirlemişlerdir. Tür spesifik genlerin önemli virulans faktörlerini, suş spesifik genlerin ise yüzey lokalize yapıların modifikasyon sistemlerini kodladığı tespit edilmiştir (Dorrell vd., 2001; Polat, 2008).

İlk genom analizleri gerçekleştirilen 3 standart *C. jejuni* suşunun tamamında tip III sekresyon sistem (TTSS) komponentlerini kodlayan gen dizisi ile homolog nükleotid dizilerine rastlanmıştır. Bunlara ilaveten 81-176 suşunda Tip IV sekresyon sistemi ile homolog gen dizisi içeren ekstrakromozomal plazmit taşıdığı ifade edilmiştir (Ono, 2003). Ayrıca, standart suşların, tekrarlayan DNA dizileri ve inserted sequence element (IS)'lerin varlığı açısından farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Meinersmann, 1997; Polat, 2008).

1.1.3. Mikroskobik ve makroskobik morfoloji ve boyanma özellikleri

Campylobacter'ler küçük, spiral kıvrık şekilli, gram negatif kok bakterilerdir. Hücrenin bir ya da her iki ucunda bir kutuplu kamçıları bulunur. Hücreler oldukça hareketlidir. Katalaz ve oksidaz pozitif, üre negatiftirler. *Campylobacter*'lerin genişlik ve uzunlukları sırasıyla 0.2-0.9mm ve 0.5-5mm, mikraerofiliktirler. Gelişimini olumsuz etkileyen koşullarda çubuk forma dönüşebilirler (Moran ve Upton, 1987a). *C. jejuni*, sahip olduğu 2-3 katı boyutundaki mono veya bipolar flagellalarıyla tırbüşon benzeri vidalama hareketi yapar. *Campylobacter* kolonilerinin hemoliz oluşturmadığı, ayırt edici bir kokuya sahip olmadıkları ve de katı besiyerinde kolonilerinin oluşumunun gözlenmesi için en az 24 saat inkübasyon süresinin geçmesi gerektiği bildirilmiştir. Koloni morfolojileri nem oranlarına göre farklılık göstermektedir. Nem oranının düşük olduğu besiyerlerinde; 1-2 mm çapında olan, konveks,

parlak, düzgün kenarlı, hafif opak merkezi koloniler, nem oranının yüksek olduğu besiyerlerinde ise 10 mm çapında olan, basık, yaygın, düzensiz kenarlı ve grimsi renkte koloniler oluşturmaktadırlar (Ömer, 2009).

1.1.4. Üreme özellikleri ve fizyolojik karakterleri

Termofilik *Campylobacter* türleri olan *C. jejuni* ve *C. coli*'nin gelişimi için sıcaklık aralığı 34-44°C olup, en iyi gelişim sıcaklıkları 42 °C'dir. Bu üreme ısısının, bakterinin sıcakkanlı kuşların bağırsaklarında adaptasyonunun bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Termofilik *Campylobacter* türlerinin, optimum üreme sıcaklıkları 42°C olup, 37-42°C arasında büyüme yeteneğindedir. Soğuk şok proteinlerine sahip olmadıkları için, 30°C'nin altında büyüyemezler. Tam anlamıyla termofili özelliği göstermedikleri için (55°C ve üzerinde büyüme), Levin (2007), bu canlılara "termotolerant" denilmesini önermiştir. Mikroaerofilik olan bu etkenler laboratuvar koşullarında % 5-10 CO₂, % 5 H₂ ve % 85 N₂ içeren atmosferde üremektedirler.

De Cesare ve arkadaşları (2003) ise, *C. jejuni*'nin 27°C ve %60-62 nem düzeyinde, bazı besin yüzeylerinde yaklaşık 4 saat canlı kalabildiğini göstermiş olup, bu özelliği *Campylobacter*'lerin, konak canlının dışında ve işleme, paketlenme sırasında besinlerin üzerinde çoğalma yeteneğini azaltmaktadır (Park, 2002). Su aktivitesi (aw) 0.0987'den (%2 w/v'den yüksek sodyum klorid konsantrasyonları hassastır) küçük olan ortamlarda büyüme gerçekleşmez. Optimal büyüme, aw =0.997 iken olur (yaklaşık %0.5 w/v NaCl). *Campylobacter* türleri, D değeri 1'den az olanlarda sıcaklık terapisiyle kolayca inaktive edilir. *Campylobacter* popülasyonunu azaltan bir başka etken dondurma-eritme işlemidir (Stern ve Kazmi, 1989). Saf kültürlerin 3 gün -15°C'de bekletilmesi de *Campylobacter* türlerini inaktive eder (Stern ve Kotula, 1982). *Campylobacter*'ler son derece esnek olup, 0.65 ve 0.45 µm'lik membran filtrelerden geçebilirler. Aside dirençsizdirler. Alkalen-metilen mavisi, kristal viyole ve karbol fuksinle iyi boyanırlar.

Etken, düşük aw değerlerine ve kurumaya karşı oldukça duyarlı olup, 0.997'nin altındaki aw değerlerinde canlılığını sürdüremez. Benzer şekilde, % 2 tuz içeren besiyerlerinde de üreyemediği bildirilmiştir. *C. jejuni*'nin üreyebildiği pH değeri 4.9 – 9.0 olup, optimum pH değeri 6.5 – 7.5'tir (Stern ve Kazmi, 1989).

1.2. Virülans Faktörleri

Campylobacter spp. konak canlıya entegre olduğunda, canlıya ait dışkı materyali çevreyi kontamine eder ve bu mikroorganizma insanlarda gastroenterite sebep olur (Wilma vd.,

1998). Guillain-Barre sendromu gibi daha da ciddi nörolojik hastalıklara ve sonunda ölüme yol açar. *Campylobacter*'lerde çeşitli virulans faktörler hayatta kalmaya ve konakta hastalığın oluşumuna sebep olur.

1.2.1. Hareket ve kemotaksis

Hareket ve kemotaksisin birçok çevrenin bakteriyel kolonizasyonunda önemli bir rolü olduğu gözlenmiştir (Bruce vd., 1986). Epitel hücrelere yapışmak için kamçıların hayati bir rolü olduğu öne sürülmüştür. *Campylobacter jejuni* epitel hücreleri bir adhezin olarak flagellinin yardımıyla bağlar ve tavşanlar, yenidoğan fareler, hamsterlar vb.'nin barsak sistemlerine kolonize olurlar. Flagellin için kodlanan genler *C. jejuni* suşlarından izole edilir (Grant vd., 1993). Fla A gen tiplene çalışmaları çevreden izole edilen *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının evrensel olarak belirlenmesi için yapılır (Gondo vd., 2006). Bakteriyel kemotaksis, çevresel uyarımı algılayan bakteriler ve kamçılı rotasyonuyla onlara cevap verebilen bir karmaşık sinyal iletim sistemidir. 1986 yılında Pasteur ve Gibbons, diş eti cebinden alınan plaklardan izole edilen *Campylobacter* ve *Wollinella* türlerinin oral kolonizasyonunda kemotaksisin rolünü incelemiştir (Hughdahl vd., 1988). *C. concisus* hücreleri için laktat, amino asitler ve şekerler gibi moleküllerin kemotaksiste atraktan olduğu ortaya konulmuştur. Bu maddelerin, ağız boşluğuna *Campylobacter*'in yerleşmesine ve periyodontal ceplere daha fazla plak kolonize olmasına sebep olabildiği düşünülmektedir. *Campylobacter* kemotaksis araştırmalarında, safra kesesi ve barsak sisteminden salgılanan safra ve musin gibi kimyasallar üzerine çalışmalar yapılmıştır. Üzerinde çalışma yapılan diğer kimyasallar; karbonhidratlar, inorganik iyonlar, organik asitler ve aminoasitlerdir. Bakteriyel birikimi yoğun bölgelere bu çekici maddeyi içeren agarlar yerleştirildiğinde, bakterilerin bu bölgelerin çevresine kolonize olduğu gözlenmiştir. Musin yalnızca *C. jejuni* söz konusu olduğunda güçlü bir kimyasalçekici olup, bu da kamçılı rotasyon çalışmalarıyla doğrulanmıştır. Trikarboksilik asit döngüsünün organik asit ara ürünlerinin bir tri karboksilik asit döngüsü alım sistemine sahip olan *Campylobacter*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ların tamamı kimyasal çekicidir. Safra, musin ve L-fukoz üzerine *Campylobacter* kimyasalçekici eklenmesiyle, barsaklara ve hayvanların safra kesesine kolonize olma yeteneğini artırır (Grant vd., 1993).

1.2.2. İnvazyon ve adhezyon

Campylobacter'lerin en önemli virulanslarından birisi de barsak hücreleri ile ekileşimin sağlanmasıdır. Barsak mukozasına penetrasyon, *Campylobacter* aracılı gastroenteritlerin patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. *Campylobacter*, ilk olarak insan barsak epitel hücre zarına yapışır ve sonra hücre içine yerleşir. *C. jejuni* translokasyonunun bir sonucu olarak

barsak mukozal dokularına ulaşır ve doku hasarına, inflamasyona ve dolayısıyla gastroenterite sebep olur. *Campylobacter*'ler epitel hücrelere proteinler, kamçıları ve lipopolisakkarit virulans faktörleriyle yapışır. *C. jejuni* ve *C. coli* birlikteliği ise Hela hücreleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmalar, invazif olmayan suşlarla enfekte olanlara göre, invazif olan *Campylobacter* suşlarıyla enfekte olan hastalarda daha sık ishal ve ateş olduğunu gösterir. Güçlü gentamisin desteğiyle hücreler arası bakterilerin öldürülmesinden sonra yapılan canlı sayımı ve iletim, elektron mikroskopisinde ilgili *Campylobacter*'in hücre zarına yapışıp sitoplazmik vakuollerin içine yerleştiği ortaya çıkmıştır (Fauchere vd., 1986).

İnsan barsak epitel hücrelerine *Campylobacter*'in adhezyonunda flagellanın rolüyle ilgili çalışmalar yapılmıştır. *C. jejuni* flagellar mutantları, tek katmanlı çapraz polarize insan epitel hücre kültüründe oluşturulup incelenmiştir (Grant vd., 1993). Bulgular, flaA gen ürünü ve bunların hareketliliğinin, bakterinin *Campylobacter*'lerin translokasyonu ve polarize tek katmanlı hücre bariyerlerini geçmesine için gerekli olduğunu göstermektedir. *Campylobacter*'lerde flagellin ve adhezyonun her ikisi de bakterilerin hücrelere geri dönüşümsüz bağlanması için gereklidir (Grant vd., 1993).

1.2.3. Hücre duvarı

Gram negatif hücreler gibi, *Campylobacter* dış hücre zarında özeldir. Hücre duvarı; dışta bir lipoprotein tabakası, ortada lipopolisakkarit tabakası, içte mukopeptid tabakası olmak üzere üç katmanlıdır. Enzimatik uygulama sonrasında, murein'in muramik asit, glukozamin, alanin, glutamik asit ve diaminopimelik asitten oluştuğu ortaya çıkmıştır. Disakkarit tetrapeptidlerin yapısının Glc NAc-MurNAc-L-ALa-D-Glu-meso-Dpm-D-Ala lerden oluştuğu bildirilmiştir. Hücre duvarının polisakkarit yapısının içinde %80 glikoz bulunur (Smibert, 1978).

Lipopolisakkarit, dış membrana bağlı Lipid A kısmı ve lipopolisakkarit molekülünün endotoksik parçası olmak üzere 3 farklı bölgeden oluşur. *Campylobacter*'in lipopolisakkarit molekülleri adhezyonda yer alır, antijenik çeşitlilikte bir rol oynar ve LPS antijenik kompozisyonunu kaydırma yeteneğine sahiptir. Şaşırtıcı bir şekilde, prokaryotlarda sık rastlanmayan sialik asit, merkez oligosakkaritinde mevcuttur. Bu sialik asit kalıntıları, D-galaktozidaza bağlandığında insan gangliosidleri gibi görünür. Bu moleküler benzerlik, guillain Barre sendromu ve miller-fisher sendromu gibi nöropatolojik otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmektedir ve insanlarda hastanın ölümüne yol açmaktadır (Fry vd., 2000).

1.2.4. Bazı önemli proteinler, toksin ve enzimler

Campylobacter'in önemli virulans faktörleri bakterinin hayatta kalmasını ve immün sistemden korunmasını sağlayan çeşitli enzimler, kolonizasyona katkı sağlayan çeşitli proteinler ve *CDT* toksinidir. Bu bakteriler, kendi savunma mekanizmalarının bir parçası olan, süper oksit moleküllerini hidrojen peroksit ve dioksijene parçalayarak çok sayıda hücre bileşenini (sitoplazmik enzimler, DNA ve membran faktörleri gibi) koruyan süper oksit dismutaz içerirler (Pesci vd., 1994). *Campylobacter* türleri parankima hücrelerinde propria tabakasında, barsak lümeninin kaplayan epitel hücrelerinde, granulositlerin içinde yer alır. Hücre içi assachrolitik varlığı, mikrobiyal rekabetin az ya da olmadığı ortamlarda, yavaş büyüyen organizmaya uygun bir ortam sağlamaktadır. Aerobik metabolizma reaksiyonları esnasında miyeloperoksidazla birlikte ortaya çıkan hidrojen peroksit, indirgenmiş demir ya da nitrik oksit sentez bileşenleri, hipokloröz anyon, hidroksil radikalleri, hidroksit anyon, azot dioksit ve peroxynitrite gibi birçok toksik ara ürünlerin oluşumuna yol açar. Hidrojen peroksit inaktive katalaz üretimi, bu toksik türlerin üretimi ve konak hücre ile dokuların içinde yaşamı yok eder. Katalaz, *Campylobacter*'in hidrojen peroksit ve makrofaja karşı kendini koruması için gereklidir. KatA, *C. jejuni*'de katalaz genini kodlar ve bu geni eksik olan mutantlar, yabani tip suşuna göre konakta daha kısa süre canlı kalabilirler. Katalaz enzimi bakterinin hücre içinde canlı kalmasında az bir role sahiptir (William vd., 2001). Makrofajın respiratorik yıkımından ve nitrik oksit etkilerinden korunmada ise oldukça önemlidir.

Flagellin proteinleri ve *Campylobacter* adhezyon proteini olarak tanımlanan (CadF) yapı birlikte kolonizasyonda rol alırlar ve önemli virülens faktörler olarak değerlendirilirler. Bir diğer yapı *C. jejuni* ve *C. coli*'nin, demir taşıyıcı enterochelin için protein taşıma sistemi oluşumundan sorumlu lipoproteindir ve *ceu E* geni tarafından kodlanmaktadır.

Campylobacter'de en önemli virülens faktörler arasında *CDT* toksini yer almaktadır (Bhavsar, Kapadnis, 2006). Bu protein karakterindeki toksin *Cdt A*, *Cdt B* ve *Cdt C* adlı üç gen tarafından kodlanmaktadır. *Cdt B* aktif toksin komponentinin kodlanmasından sorumlu iken *Cdt A* ve *Cdt C* konağa bağlanma ve internalizasyonda rol alan proteinleri kodlar. *CDT* toksini konak hücrenin hayat siklusunu durdurur, mitoz bölünmesini engeller ve hücre ölümüne yol açar (Bang vd., 2003).

1.3. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Epidemiyolojisi

1.3.1. Gıdalarda

Hayvansal besinlerdeki *Campylobacter* türlerinin insidansı üzerine yayınlanan bazı araştırmalar; bu patojenlerin sığır, domuz, sağmal inek, hindi, ördek ve kuzu gibi tavuk dışındaki hayvanlarda da yaygın olarak bulunduğunu gösterir (Humphrey vd., 2007). Enteropatojen prevalansı %0-80 arasında değişen sağlıklı sığırın sindirim kanalının, *Campylobacter* türleri için önemli bir rezervuar olduğu görülür (Atabay ve Corry, 1998). *Campylobacter* prevalansı diğer hayvanlardan daha düşük olan koyunda, prevalans %20 civarındadır (Zweifel ve Stephan, 2004). Domuzlarda yüksek *Campylobacter* prevalansı birçok çalışmada gösterilmiştir. İşlenmiş domuz etinin sığır ve koyundan daha sık kontamine olduğu bilinir (Nesbakken vd., 2003). Ölmüş domuzların erken işlenme döneminde, ortak olarak deri çıkarma öncesi ön işlemden geçirilmesi ve tüm işleme prosedürü boyunca derilerinin üstlerinde olması buna neden olarak gösterilir (Moore vd., 2005). Kaynatılmamış süt, *Campylobacter* kaynaklı gastroenterit nedeni olabilmektedir (Blaser vd., 1979; Robinson vd., 1979; Porter ve Reid, 1980; Potter vd., 1983). *C. jejuni*'nin sütte bulunması, sağma sırasında fekal çapraz kontaminasyonun ya da meme enfeksiyonunun sonucu olabilir (Doyle ve Roman, 1982; Orr vd., 1995). Özellikle kümes hayvanları olmak üzere, hayvansal besin ve su tüketiminin yanında, evcil hayvanlar ve çiftlik hayvanlarıyla temasta insanda enfeksiyon için bir nedendir (Kapperud vd., 1992; Saeed vd., 1993; Schorr vd., 1994; Studahl ve Andersson, 2000). Evcil veya vahşi hayvan dışkıları ile kontamine olmuş ortamlar, içme suyu (Duke vd., 1996; Frost vd., 2002; Said vd., 2003) tüketimi de insanlar için enfeksiyonu riski oluşturmaktadır. Sporadik *Campylobacteriosis*'te, besin dışı kaynakların epidemiyolojisi açıklanamasa da çoğu enfeksiyonun kontamine besin tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (Brown vd., 2004).

Campylobacter türlerinin sıcaklığa duyarlı olması, pişirme sıcaklıkları ve sürelerinin düzenlenmesi ile eliminasyonunu mümkün kılar. Ancak bu CCP daha sonraki işlemlerde çapraz kontaminasyon olasılığını yok etmez (yeterince temizlenmemiş çalışma yüzeyleri ve araçlarından kontaminasyon gibi).

Campylobacter'ler kolayca yer değiştirip yüzeylere tutunabilirler. Bu yüzden çapraz kontaminasyon için ilave önlemler gerekir. Örneğin, tavuk etinin ocağa alınmadan önce akan suyun altında yıkanılması önerilir. Rutin olarak çalışma yüzeyleri ve araçları sıcak suyla temizlenir. Cogan vd. (1999), temizlikte sıcak su ve hipoklorit kullanılmasının kontaminasyon alanlarını azalttığını belirtmiştir. Ölü hayvanlara ya da parçalarına laktik asit, sitrik asit veya hipokloritle daldırma ve spreyleme işleminin uygulanması 1.0-1.5 log kadar maksimal düşüşe

neden olur (Ellebroek vd., 2007). Norveç'te 3 haftaya kadar dondurucuda tutulmuş tavuklarda riskin tamamen elimine olmasa da düştüğü düşünülmektedir (Sandberg vd., 2006). Humphrey vd. (2007), özellikle immün yetersiz hastalar ve çocuklar olmak üzere, popülasyonda besin kaynaklı enfeksiyonların ve *Campylobacter*'lerin yayılımının azalması için acil olarak tüketicilerin ve aşçıların bilgilendirilmesi gerektiğini bildirir.

1.3.2. Sularda

Campylobacter ile kontamine sulardan toplanan kabuklular, enfeksiyonun en olası nedeni olarak görülmektedir (Wilson ve Moore, 1996). Arıtılmamış su ve yağmur suyu tüketimi de *Campylobacteriosis*'in risk faktörleri arasındadır. İsveç'te yürütülen ekolojik bir araştırmada, kişi başına tüketilen ortalama su miktarı ve *Campylobacter* insidansı arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Geviş getiren hayvanlar için de aynı korelasyon geçerlidir. Bu gözlemler, su tüketme ve kontamine çiftlik hayvanlarının, sporadik *Campylobacteriosis* vakalarının bir kısmını açıklayabilecek faktörler olduğunu gösterir (Nygard vd., 2004).

1.3.3. Hayvanlarda

Tavuk eti birçok ülkede yüksek kalite protein için önemli bir kaynaktır. Vitamin ve mineraller ile esansiyel amino asitler bakımından da zengindir. Yağsız tavuk eti, aynı miktarda kızarmış yağsız sığır etinden daha fazla protein içerir. Fiyatı, sığır ve domuz etinden daha düşüktür. Dolayısıyla tavuk yan ürünleri, düşük fiyatı, özgün lezzeti ve kısa hazırlanma süreleri nedeniyle yaygın olarak tüketilir. Tavuk ve tavuk yan ürünlerinin tüketimi son yıllarda dünya çapında birçok akut *Campylobacteriosis* salgınına neden olmuştur. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, özellikle yaşlılar, çocuklar ve immün yetersiz hastalarda daha fazla görülmektedir. (Tauxe,1992; Skirrow,1998; Corry ve Atabay, 2001). Çoğu vaka, hayvanlarla temas, çiğ ya da az pişmiş et tüketimi ve çiğ etten pişmiş ete çapraz kontaminasyon ile ilişkilendirilir (Butzler ve Oosterom, 1991; Tauxe vd., 1997; Corry ve Atabay, 2001; Nadeau vd., 2002). El-Shibiny ve arkadaşları (2005), organik ve açık alanda yetişen tavuklarda dominant türün *C. coli* olduğunu iddia eder. Yakın zamanda İngiltere ve Galler'de yapılan bir çalışma, *C. jejuni*'nin *C. coli*'ye göre 12 kat daha fazla *Campylobacteriosis*e neden olduğunu ortaya koymuştur (Friedman vd., 2000).

Tavuk bağırsağında, özellikle sekum ve kolonda birçok *Campylobacter* türü bulunur. İşlenme sırasında bağırsağın yırtılması veya zedelenmesi, bu içeriğin deriye temas etmesiyle sonuçlanabilir (Berrang vd., 2001). *Campylobacter* türleri deri üzerinde sıvı bir filmde kalırlar. İçindeki kanallar yoluyla çapraz kontaminasyon için uygun bir ortam oluşur (McMeekin vd.,

1984). Derideki uygun mikroortam, *Campylobacter* varlığını destekler. 4°C'deki dondurma ve saklama koşullarında bile *Campylobacter* ölü hayvan üzerinde kalabilir (Simmons ve Gibbs, 1979).

Geçmişteki çalışmalar, kontrollü atmosferin olduğu ambalajlarda, oda sıcaklığında, deri üzerinde büyümenin mümkün olduğunu göstermiştir. Bu durum, uygun şekilde saklanmayan ve işlenmeyen tavuklardaki kontaminasyon riskini artırır (Lee vd., 1998; Schere vd., 2006). *C. jejuni*'nin farklı mevsimsel sıcaklıklarda kümeste bulunma sıklığını karşılaştıran bir araştırma yürütülmüştür. Wills ve Murray (1997) özellikle sıcak aylarda (Mayıs'tan Ekim'e) *Campylobacter* türlerinin kümes hayvanları için önemli bir sorun olduğunu göstermiştir. Bu aylarda test edilen örneklerin %87- 97'si *C. jejuni* için pozitifdir. En düşük pozitif oranlar %7 ile Aralık'ta ve %33 ile Ocak'ta görülmüştür. Ayrıca, üretim ağında farklı yaşlardaki piliç sürülerinde *C. jejuni*'nin bağırsak kolonizasyonunda da değişkenlik olduğu görülmüştür.

Sürülerde *Campylobacter* pozitifliği, üretim yöntemiyle ilişkilidir. Organik ve açık alanda yetişen sürülerde, muhtemelen çevresel etkileşim daha fazla olduğundan, pozitiflik oranı daha yüksektir (Hendrixson ve DiRita, 2004). Farklı çevresel kaynaklara daha fazla maruz kalmaları organik ve açık alanda gezen tavukları birçok *Campylobacter* türünün kolonizasyonu için daha kolay hedef haline getirir (Newell ve Wagenaar, 2000). *Campylobacter* kontaminasyonu seviyelerini düşürmek, tavuk yetiştirirken kullanılan bitkilerde iyi tarım uygulamaları (GAP) ve iyi üretim uygulamalarına (GMP) önem vermekle sağlanabilir (Tauxe, 1992; Allos, 2001).

Kontrol yöntemlerinin uygulanmasından önce enfeksiyonun kaynaklarının ve yayılma yollarının belirlenmesi gerekmektedir.

Campylobacter'in piliçlerin gastrointestinal yolunda sınırlı olduğu yaygın olarak kabul edilmesine rağmen, "*Campylobacter*'in, piliç sürüleri ve sonraki nesilleri arasında nasıl ne zaman ve ne ölçüde yayıldığı" ile ilgili fikir ayrılıkları bulunmaktadır (Cox vd., 2010). *Campylobacter*'in piliçlere bulaşmasında en olası yol, çevreden horizontal geçiştir. Tek bir kuş kolonize olduğunda sürü içinde horizontal yayılımın hızla gerçekleştiği, geniş çevrelerce kabul edilmektedir (Carrilo vd., 2004; Horrocks vd., 2009). Yayılımdan sonra giderilmesi oldukça zordur. Büyük sürüler, çevresel su kaynakları, çöpler, böcekler, vahşi kuşlar, kemirgenler, fekal temas, çalışanlar ve diğer hayvanlar kolonizasyon ve yayılma riskini artırır (Aarts vd., 1995; Adkin vd., 2006; Horrocks vd., 2009). *Salmonella* türlerinde, yemlerin sürü içinde önemli bir yayılma yolu sayılmasına rağmen, *Campylobacter* türlerinde bundan bahsedilmemiştir (White vd., 1997). *Campylobacter*'in hayvanlarda, çevrede, aynı anda birçok yerde bulunması, yem

içeriklerinin vahşi kuş dışkıları gibi nedenlerle kontamine olabileceğini göstermektedir. Ancak *Campylobacter* türleri kuru koşullara karşı oldukça duyarlıdır. Yemlerde kısa sürede öldükleri görülmüştür (Cox vd., 2010). Yine de *Campylobacter* görülen bir piliç üretim tesisinde su ile birlikte yemleri de horizontal geçiş aracı olarak değerlendirmek gerekir (ACMSF, 2004). Yavrulayan sürülerde *Campylobacter*'in vertikal geçişi ile ilgili süregelen bir tartışma vardır. Clark ve Bueschkens (1985), döllenmiş tavuk yumurtalarına *C. jejuni* aşlamış ve çıkan civcivlerin %11'inin bağırsağında patojeni görmüşlerdir. Linblom vd. (1986), hiçbir çiftlik ortamına maruz kalmadan laboratuvarında yetiştirilen tavukların *C. jejuni*'yle kolonize olmaya devam ettiğini göstermiştir. Yeni doğan civcivlerin çekumunda *C. jejuni* taşıma oranı yaklaşık %35'tir. Bu durum tavukların çiftliğe transferinden önce kolonize olduğunu gösterir. Kazwala vd. (1990) ile Van De Giessen vd. (1992), yumurtadan çıktıktan 1-2 gün sonra tavukların küçük bir kısmında *Campylobacter* izole edilebilmesinden vertikal geçişin mümkün olduğunu iddia etmişlerdir. Pearson vd. (1996), yetişkin tavuklardan ve yumurtadan yeni çıkmış tavuklardan izole edilen *Campylobacter* türleri arasında bir fark bulamamışlardır. Bu durum vertikal geçiş için başka bir kanıt oluşturur (EFSA, 2006). Cox vd., *C. jejuni*'nin oral ya da intracloacal inokülasyondan sonra bir günlük civcivin lenfoid organlarına hızla dağıldığını ve buralarda uzun süre kaldığını göstermiştir. Ayrıca, *Campylobacter*'in yumurtada ve kuluçka tüylerinde görülmesi de vertikal yayılma için güçlü bir kanıttır. Callicott vd. (2006), *Campylobacter* pozitif sürülerin 2 alt neslini araştırdıkları 60.000 yavru için vertikal yayılmanın gerçekleştiğini sonucuna ulaşmışlardır.

Tavuk yetiştirme tesislerinin, vahşi ve evcil hayvanlar ile çevresel kaynaklardan kontaminasyonu minimize edilmelidir. Çalışanların giriş çıkışını kontrol etmek, elleri yıkamak ve sterilize etmek, botları ve iş kıyafetlerini giriş çıkışta değiştirmek gibi katı hijyenik rutinler, iç ve dış ortamlar arasında hijyenik bariyer kurmaktadır. Açıkta gezen tavuklar yetiştirmek konvansiyonel üretime göre çok daha risklidir ve kontrolünde daha büyük zorluklar görülmektedir (Humphrey vd., 2007). Yemlerde hayvansal proteini minimuma düşürmek ya da tamamen dışlamak ve su kaynaklarını sterilize etmek etkili prosedürlerdir. Enfeksiyonun yayılımını artıran bir diğer faktör, sürünün bir kısmının alınıp kalanının büyümeye devam etmesi için bırakılmasıdır. Kalan tavuklar daha yüksek enfeksiyon oranı göstermektedir (Hald vd., 2001). Besi hayvanı yetiştirmede antibiyotik kullanımı, antibiyotik dirençli alt türlerin gelişmesine yol açtığından artık kabul görmeyen bir yaklaşımdır. Kompleks polisakkaritler ve laktik asit bakterileri gibi pre- ve pro-biyotikler umut vaat eden çalışmalardır (Hariharan vd., 2004). *Salmonella* kontrolünde başarılı bir yöntem olan kompetitif dışlama (Nurmi prensibi) *Campylobacter* kontrolünde etkili değildir (Mead, 2002). Bakteriyosin üreten bakterilerin (örn:

Paenibacillus polymyxa) ve bakteriyosinlerin kullanımı da başarılı olabilecek çalışmalar arasındadır (Stern ve vd., 2005). Benzer şekilde *C. jejuni* için litik olan bakteriyofajların tavuklara uygulanması, 5 günlük uygulamadan sonra çekal içerikte 0.5-5 log cfu/g azalmaya yol açmıştır (Carrillo vd., 2005). Carvalho vd. (2010), üçlü litik faj kokteylinin *C. jejuni* ve *C. coli* ile enfekte tavuklara uygulanmasından sonra 2 log cfu/g elde etmişler ve etkiler araştırma süresi boyunca sabit kalmıştır. Bir araştırmada, bulunan faja dirençli alt türlerin enfektivitesinin kısıtlı olduğu görülmüştür. Bu türler *Campylobacter* florasının minör elemanlarındandır. Ancak Carvalho vd. (2010) araştırmalarında faja dirençli alt türlerin enfektif kalabildiğini iddia eder. Etkili bir faj terapisinin geliştirilmesi için, fajların doğru seçilmesi ve faja dirençli alt türler oluşturmayacak şekilde kokteyller hazırlanması gerekmektedir. Bu yöntem organizmanın tamamen yok olmasını sağlamasa da sürülerde ve yalnız kuşlarda enfeksiyon oranlarını azaltabilir. Elbette hayvanlarda *Campylobacter* sayılarının azalması insan enfeksiyonlarını da azaltacaktır.

1.3.4. İnsanlarda

Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC), zoonoz raporlarında, *Campylobacteriosis*'i Avrupa Birliği'nde son 5 yılda en sık bildirilen zoonoz olarak gösterir. *Salmonellosis* ve *yersiniosis* onu takip ederler (EFSA, 2007, 2010b). 2008'de bildirilen ve doğrulanmış 190.566 vakayla, *Campylobacteriosis* başta gelen zoonotik hastalık haline gelmiştir (EFSA, 2010b). 2007'de, 24 üye ülke tarafından bildirilen 200.000'den fazla *Campylobacteriosis* vakası bulunmaktadır. Avrupa Birliği'nde 100.000 nüfusta bildirim oranı 45.2'dir. Oranlar ülkelere göre değişiklik gösterir. 2006 yılıyla karşılaştırıldığında, bildirilen vakalarda %14.2 artış görülür (EFSA, 2009). 2007 yılında bildirilen *Campylobacteriosis* enfeksiyonlarındaki besin aracısı, büyük çoğunlukla kontamine kümes hayvanlarıdır. ABD'deki Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezleri'nin (CDC) Besin Kaynaklı Hastalıkları Aktif Gözetleme Ağı (FoodNet), 2009'da, bildirilen enfeksiyon sayısının 6.033, 100.000 nüfuslu popülasyondaki insidansın 13.02 olduğunu tahmin etmektedir (Anonymous, 2010). Gerçekte, CDC'ye her yıl 10.000'den fazla vaka bildirilir (100.000 kişi için yaklaşık 6 vaka). Ancak birçok vaka, tanı konmamış ya da bildirilmemiş olarak kalmaktadır. *Campylobacter*'in, ABD'de her yıl iki milyondan fazla hastalığa (nüfusun %1'i), 13.000 hastanede tedaviye ve 100'den fazla ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir. Avrupa Birliği'nde bildirilen tüm *Campylobacteriosis* vakalarında salgın oranları 2004-2005'te %2, 2006'da %1 ve 2007'de %0.12'dir. (EFSA, 2006, 2007, 2009). Çoğu *Campylobacteriosis* vakası sporadiktir. Ancak *Campylobacter* Koruyucu Gözetleme Planı Ortakları (2003), *Campylobacteriosis* salgınlarının önceden tahmin edilenden çok daha fazla olabileceğini iddia

etmiştir. İngiltere ve Galler’de 2008’de, 321.000 vaka, 15.000 hastanede tedavi vakası ve 76 ölüm görülmüştür. Piliç etiyle temas ve tüketimi, tüm *Campylobacteriosis* vakalarının %20-30’unda başta gelen nedenidir. Tüm vakaların %50-80’i, genel olarak tavuk rezervuarına dayandırılabilir (EFSA, 2010a). EFSA’ya göre (2010b), tek bir tavuk ölüsünde bulunan patojen miktarları oldukça fark gösterebilmektedir. Buna göre bazı mezbahaların, organizmanın yayılımını kontrol etmede diğer mezbahalardan daha fazla rolü olabileceği düşünülür. *Campylobacter*’le kontaminasyon riskini etkileyen diğer faktörler, kesilen tavuğun yaşı, tavuğun işlenmesinin yıl ve gün içerisindeki zamanıdır. Ayrıca tavuk sürülerinin nüfusunun azaltılması da enfeksiyon olasılığını azaltabilir. Çünkü bazı tavuklar kesimden çıkarılıp büyütülmeye devam edilir. Bu işlemler sırasında insanların ve diğer vektörlerin *Campylobacter*’e maruz kalıp diğer tavukları enfekte edebildiği düşünülür (EFSA, 2010b). Yakın zamanda EFSA, *Campylobacteriosis* enfeksiyonunu etkileyen bazı faktörleri tanımlamıştır. Bunların içinde yaş (5 yaşından küçük çocuklarda görülme oranı daha yüksektir), mevsim (yaz aylarında daha çok vaka bildirilmiştir), alt tür varyasyonları (bazı alt türler diğerlerinden daha az patojeniktir), konak canlı immünitesi, seyahat ve demografik faktörler (sosyoekonomik durum gibi) bulunur. Besin kaynaklı, hayvanlardan bulaşan hastalıklar dünya çapında önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), her yıl 2 milyondan fazla kişinin kontamine besin tüketimi ile ilişkili diyareyal hastalıklardan öldüğünü tahmin etmektedir (WHO, 2005; EFSA, 2007). Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi, tüm üye ülkelerde, tanı konmamış ve bildirilmemiş vakalar için, *Campylobacteriosis*’in aktif gözlemlenmesini önerir ve hastalığın önemine dikkat çekmektedir. Ayrıca insan ve diğer varsayılan rezervuarlardan toplanan izolasyonlarının saklanması ve genotip çalışmalarının yapılması da tavsiye edilir. Bundan sonra *Campylobacter*’in virülans özelliklerini, hayatta kalma karakteristiklerini ve ekolojisini de tanımlamak önemli olacaktır (EFSA, 2011). Sık görülen *Campylobacter* enfeksiyonlarının, yüksek genel masrafları bulunmaktadır. Medikal harcamalar, kaybedilen işçilik, ürün toplatmaları, legal harcamalar ve diğer indirek masraflar buna neden olmaktadır. Her bir *Campylobacteriosis* enfeksiyonunun, başta medikal masraflar ve iş verimi masrafları olmak üzere yaklaşık 920\$’a mal olduğu tahmin edilmektedir. Yıllık toplam masraf 1 milyarı bulabilir (CAST, 1994). *Campylobacteriosis* sonucu yıllık kayıplar her geçen yıl artış gösterir (Forsythe, 2000). Havelaar ve arkadaşları (2005), her yıl yaklaşık 80.000 gastroenterit vakasının görüldüğü Hollanda’da *Campylobacteriosis* sonucu hastalıkların toplam masrafının, yıllık 21 milyon euro olduğunu tahmin etmektedir.

1.4. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Neden Olduğu Hastalıklar

1.4.1. İnsanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon

Campylobacter enfeksiyonu insanda, ağrı, ateş, iltihap ve ishalle tanımlanan akut gastroenteritle kendini gösterir. Enfeksiyöz dozu 500-800 bakteri kadar azdır. Akut diyareden önce gelen inkübasyon periyodu 2-5 gün arasındadır. Hastalığın 1 haftada çözülmesine rağmen semptomlar 2 haftaya kadar devam edebilir. Gelişmiş ülkelerde *Campylobacteriosis*, kanlı ve mukuslu ishal ile görülür. Gelişmekte olan ülkelerde ise sulu diyare daha sık görülür, enfeksiyon çocuklar arasında daha yaygındır. Bu durum, doğal olarak aşılınmayı sağlar ve yetişkinlikte hastalığın görülme oranını azaltır. Bu farklılığın nedeni kesin olarak bilinmese de farklı çevrelerdeki doğal immün uyarıcıların yarattığı farklı immünite seviyelerinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

C. jejuni'nin enfeksiyon oluşturabilmesi için, gastrointestinal yoldaki mekanik ve immünolojik bariyerleri geçmesi gerekir. *C. jejuni*'nin bazı özellikleri, GI yolun mukus tabakası savunmada birinci basamak olarak görev alsa da bu bariyeri geçmesini sağlar. Motilitesi, sarmal morfolojisi ve LOS'larda kısa O-sidechain yapısına sahip olması, bu özellikler arasında sayılabilir. Kısa O-sidechain, mucin glikoproteinlerine bağlanmayı azaltır. Mukus tabakasını geçen *C. jejuni*, alttaki epitel tabakasıyla etkileşime geçer. Cia protein sentezi, bir safra içeriği olan deoksikolat ile uyarılır. Ancak cia sekresyonu bundan etkilenmez. Bu durum, *Campylobacter*'in bağırsak epitel hücrelerini intraselüler olarak istila ettiği hastalarda gözlenmiştir.

Bu invazyon, in vitro koşullarda hücre dizilerinde tekrar üretilebilmektedir. *C. jejuni*, bağırsak epitelindeki fiziksel bariyeri aşmak için invazyon mekanizmalarına sahip olsa da bu hücreler inflamatuvar hücreleri enfeksiyon alanına çekmek için sinyal gönderebilirler.

Çizelge 1.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin konak duyarlılıkları ve yapmış olduğu enfeksiyonlar.

<i>Campylobacter</i> Türü	Hayvan	Oluşturduğu Enfeksiyon	Barsakta bulunma Durumu
<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i>	Koyun	Epizootikabortus, kuzularda ishal	Barsak komensali
	Sığır	Sporadikabortus, buzağılarda ishal, mastitis	Barsak komensali
	Köpek, kedi	Gastroenterit, sporadikabortus	Barsak komensali
	At	Enterit, sepsisemi	
	Tavuk	Civcivlerde ishal, vibrionik hepatit	Barsak ve safrada komensal
	İnsan	Gastroenterit, sepsisemi, Gullian-Barre Sendromu ilişkisi	-
	Diğer	Sporadikabortus, enteritis	Barsakta komensal

1.5. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Klasik Tanısı

Campylobacter türleri, oksijen ve oksijen radikallerine karşı oldukça duyarlıdır. Bu hassasiyetleri de birçok seçici ortamın geliştirilmesine yol açmıştır. Çoğu metotta, agar kaplanmadan önce sıvı ortamda zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmektedir.

Etkinlikleri açısından Bolton besi yeri (BB), *Campylobacter* ile zenginleştirilmiş besi yeri (CEB) ve Preston besi yeri gibi bazı selektif besi yerleri arasında karşılaştırma yapılmıştır (Baylis vd., 2000). Oksiraz enziminin seçici besi yerlerine eklenmesi, oksijen seviyesinin düşürüp, kontamine örneklerden *Campylobacter* izolasyonunun elde edilmesini kolaylaştırmıştır (Abeyta vd., 1997). Kansız, özel atmosfer gerektirmeyen zenginleştirilmiş besi yerine oksiraz eklendiğinde ise daha iyi bir performans gözlenmiştir (Tran, 1998).

Preston charcoal cefoperazone deoxycholate (CCDA) ve Butzler agarların eşit derecede etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak daha fazla *Campylobacter* türü izole edilebildiği için, 42°C 'de CCDA kullanımı daha çok tercih edilmektedir (Zanetti vd., 1996).

Corry ve Atabay (1997), CCDA'nın antibiyotik seviyelerini değiştirerek CAD'yi geliştirmiştir. CAD daha fazla *Campylobacter* türünün, özellikle *C. upsaliensis*'in büyümesine izin verir.

Federighi vd. (1999), Preston, Park ve Sanders besi yerlerindeki çok çeşitli ve yüksek miktardaki örneklerle zenginleştirilmiş Karmali, Butzler ve Skirrow izolasyon agarlarını karşılaştırmış olup, en iyi kombinasyonun Park ve Sanders besi yeri ardından kullanılan Karmali agarın olduğunu göstermişlerdir.

Tespit etme ve izolasyon (ISO, 2006a) ve de *Campylobacter*'lerin sayımı için kullanılan direk metodlarda (ISO, 2006b), selektif agar olarak mCCDA kullanılır. Zenginleştirme işlemi için 37°C'de Bolton besiyeri kullanılır, mikroaerofilik ortamda, 4-6 saat boyunca süspansiyon inkübasyona bırakılır. Daha sonra 41.5°C'de 40-48 saat ve daha sonra mCCDA'da ya da tercih edilen başka bir agarda kaplama işlemi yapılır. *Campylobacter* türleri, kültive edilmeleri çok zor organizmalar olduğundan, onlar için kullanılan metodlar rutin laboratuvarlarda genelde kullanılmamaktadır.

C. jejuni'nin diğer türlerden ayrımında hippurat testi kullanılmaktadır. *C. jejuni*, hippuratın peptit bağlarını yıkıma uğratarak, glisin ve benzoik asit ortaya çıkarır. Demir klorit indikatörü ile benzoik asit tespit edilir ve glisin ise ninhidrin ile reaksiyona girerek, mor renkli halka oluşturmaktadır. Hippurat hidrolizi, aerob ortamda ve kısa sürede yapılır ve bu yüzden

anaerob ortam, inokulum miktarı, inkübasyon süresi ve sıcaklık derecesi test sonucunda önemli bir etki gösterir (Corry vd., 1995).

Çizelge 1.3. Termofilik *Campylobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri.

	Biyokimyasal										Üreme		Tolerans			Duyarlılık	
	G+C	Flagella	Oksidaz	Katalaz	Hippurat	Nitrat	H ₂ S (Kurşunlu)	H ₂ S (TSİ agar)	Selenit	Indoksil asetat	25 °C	42 °C	% 3.5 NaCl	% 1 Glisin	H ₂ gereksinimi	Nalidiksik asit	Sefalotin
<i>C. jejuni</i>	29-32	BP	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	S	R
<i>C. coli</i>	31-33	BP	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	S	R
<i>C. lari</i>	31-33	BP	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	R	R

1.6. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanısı

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), termofilik *Campylobacter* türlerinin moleküler tanısında en sık başvurulmuş yöntemdir. PZR; *Campylobacter* türlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin, primerler ile ısıya dayanıklı enzimleri kullanarak, in vitro koşullarda çoğaltılmasını sağlayan, spesifik ve güvenilir olan bir yöntemdir (Adıgüzel vd., 2011). Kalıp DNA (*Campylobacter* türlerinde aranan hedef bölge), polimeraz enzimleri (*Thermusaquaticus*'tan elde edilen, sıcaklığa dirençli DNA polimeraz enzimleri), deoksinükleotit-Trifosfat (dNTP) Karışımı (Yeni DNA sarmalının tamamlanmasında kullanılan; dATP, dTTP, dGTP ve dCTP olarak bilinen 4 tip dNTP), tampon çözeltiler ve MgCl₂ PZR'nin temel bileşenleridir (Akçalı vd., 2008).

Sadece bir çift primer kullanılarak tek bir özellik ya da sadece cins düzeyinde teşhis yapılabileceği gibi, birden fazla primerçifti kullanılarak multipleks PZR (MPZR) yöntemi ile aynı anda birden fazla *Campylobacter* türü ya da özelliği de incelenebilir (Aydın vd., 2010). Zaman, sıcaklık ve döngü sayısı düzenlenerek DNA'nın PZR ile çoğaltılması gerçekleştirilir (Baldwin, vd., 2009). Bu basamaklar kısaca denatürasyon (Çift iplikli kalıp DNA'nın denatüre olduğu basamaktır), bağlanma (Tek iplikli hale gelen DNA zincirlerinin her birinin, 3' uçlarındaki nükleotitlere uygun sıcaklıkta primerlerin bağlandığı basamaktır) ve uzama (yüksek sıcaklığa dayanabilen polimeraz enziminin, primerler ve kalıp DNA'yı kullanarak yapay ortamda çift iplikli DNA sentezlediği basamaktır) aşamalarında gerçekleşir (Birren, vd., 1989).

1.7. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Genotiplendirilmesi

Campylobacter izolatlarının genomu dinamik bir yapıya sahiptir ve dolayısıyla sürekli olarak mutasyona uğrar. *Campylobacter*lerde meydana gelen bazı mutasyonların (nokta, delesyonel gibi) tespitini dayanan Pulsed-Field Jel Elektroforezi (PFGE), *fla* gen tipleme, Multilocus Sequence Typing (MLST), kısa palindromic tekrarlayan diziler arasındaki bölgelerin dizi analizi, RAPD–PZR (random amplification of polymorphic DNA) gibi ribotiplendirme yöntemleri ve restriction fragment length polymorphism (RFLP) yöntemleri, epidemiyolojik çalışmalarda ve subtiplendirme şemalarının oluşturulmasında kullanılmaktadır (Polat, 2008; Wassenaar, Newell, 2000).

Kısa süreli ve uzun süreli ve de geniş alana yayılan büyük epidemilerde, enfeksiyonun kaynağı ve major tipin tespiti, aynı zamanda salgın durumunda izole edilen major tipin daha sonraki salgınlarla ilişkisinin olup olmadığını belirleme amacı ile epidemiyolojik tiplendirme metodları kullanılmaktadır (Polat, 2008).

Campylobacter izolatlarının genotiplendirilmesinde, restriksiyon enzimi ile tüm bakteri genomunun kesilerek, ortaya çıkan bant profillerindeki polimorfizmin değerlendirildiği PFGE yöntemi altın standart olarak gösterilir. Bu yöntemde; *Campylobacter* DNA'sı parçalanmadan bir bütün olarak izole edilir ve sonra çeşitli restriksiyon endonükleazlar ile (*Sma* I, *Kpn* I) kesilerek elektroforezde bant profilleri değerlendirilir (On SLW vd., 1998; Polat, 2008).

Epidemiyolojik çalışmalarda filogenetik ilişkiyi ortaya koymak amacı ile Multilocus sequence typing (MLST) ve Multilocus Enzyme Electrophoresis (MEE) yöntemleri kullanılabilir. Bu yöntemler ile, *Campylobacter*'lerdeki çok sayıdaki housekeeping gene ait çeşitli lokusların dizi analizi ve bu genlerinin polimorfizminin tespitini sağlar (Dingle vd., 2001).

AFLP ve FAFLP gibi yöntemler nükleik asit amplifikasyona dayalı yöntemlerdir ve genotiplemede yaygın olarak kullanılır. İzolatları ayırma gücü yüksek olan AFLP yönteminde, pürifiye edilmiş tüm *Campylobacter* genomu, gen içerisinden seçilen bazı baz dizilerini (4 ya da 6 baz dizisi) tanıyan çeşitli restriksiyon endonükleaz enzimleri (*Bgl*II veya *Hind* III *Csp* 61, *Hha*I veya *Mfe*I) ile kesilerek enzim kesim bölgeleri spesifik oligonükleotidlerle (adaptör oligonükleotid) işaretlenir. Komplementer floresan boya ile işaretli primerler kullanılarak farklı büyüklükteki gen parçaları, adaptör oligonükleotidlere amplifiye edilir. Amplifikasyon ürünleri poliakrilamid jel elektroforezi (AFLP) ya da otomatize floresansı okuyan sekans analiz (FAFLP) cihazlarında görüntülenir (Lindstedt vd., 2000; Champion vd., 2002).

MLST ve AFLP yöntemleri kullanılarak suş-konak ilişkisi ortaya konulabilir. Bu amaçla farklı orijinlerden elde edilen suşlara ait bant profilleri karşılaştırılır, benzer genetik profile sahip suşlar için gen kümeleri oluşturulur (Schouls vd., 2003).

Campylobacter izolatlarının moleküler epidemiyolojisinde kullanılan PZR tabanlı bir diğer yöntem Random amplified polymorphic DNA typing (RAPD-DNA)'dır. Bu yöntemle AT yönünden zengin, 8-10 bp uzunluğunda primerler kullanılarak, yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük ısıda izolat genomundaki non-spesifik DNA fragmentlerinin amplifikasyonu ve ampliconlar arasındaki polimorfizmin tespiti amaçlanır. Aynı genotipe sahip suşlarda, primerler aynı gen bölgelerine bağlanacağı için ortak ampliconlar üretecek ve genotipik benzerlikler ortaya konulabilecektir (Polat, 2008; Ono vd., 2003).

Campylobacter salgınlarında izolatlarının genotiplendirilmesi önem taşımaktadır. Bu amaçla flagella sentezinden sorumlu *fla* geninde ki varyasyonlar değerlendirilebilir. Bu varyasyonların ortaya çıkarılması amacıyla *fla*/RFLP ve *fla* genindeki kısa değişken bölgelerdeki (SVA) polimorfizmi belirleyen dizi analiz yöntemleri de kullanılmaktadır (Meinersmann vd., 1997).

Campylobacter izolatlarının moleküler epidemiyolojisinde kullanılan bir diğer yöntem ribotiplendirme yöntemidir. Bu yöntem ribozomal RNA (rDNA) genlerinin restriksiyon (RFLP) analizine dayanır. 23S rDNA ve 16S rDNA genini hedef alan probalar ve farklı enzimler kullanılarak gerçekleştirilir (De Boer vd., 2000).

1.8. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Antimikrobiyal Duyarlılığı

Tetrasiklin, eritromisin, siprofloksasin, kanamisin, nalidiksik asit ve kloramfenikol gibi antibiyotiklerin, bir dizi *Campylobacter* direnci bildirilmiştir (Gaudreau vd., 2003). İnsan enfeksiyonlarının artış hızı *Campylobacter jejuni*'nin antimikrobiyal dirençli suşları *Campylobacteriosis* olgularının yönetiminin daha zor hale gelmesine sebep olur. *C. jejuni*'nin insan ve sağlıklı tavuk izolatları, tetrasiklin direnci açısından incelendiğinde, 32-256 mg arasında değişen yüksek düzeyde direnç gözlenmiştir. İzolatların %74 'ünde plazmidler (30-40kb) tespit edilmiştir ve hepsi tet (O) geni taşımaktadır (Pratt vd., 2005). *C. jejuni* suşlarında sık trimethoprim direnci oluşumu, antimikrobiyal ilaçlara gıda hayvanlarının yüksek düzeyde maruz kalmasıyla ilişkilendirilir (Gibreel, Skold, 1998). Ayrıca doğal dönüşebilir *C. jejuni* suşlarında yabancı direnç genlerinin kazanılmasına yol açar. *C. jejuni*'nin, her biri yaklaşık 35kb boyutunda, tanımlanmamış tetrasiklin direnci için tet o gen kodlamasını taşıyan p tet plasmidi ve virulent proteinler için p vir geni kodlayan plazmidler içerdiği bulunmuştur. Bu plazmidlerde

C. jejuni virulanslarıyla ilgili olduğu öne sürülen mutasyonların, INT407 hücre yüzeyine adezyon ve invazyonu azaltılmıştır (Bacon vd., 2000). Luo ve Zhang (2001) tarafından *C. jejuni*'nin bir kümes hayvanı izolatına bir küçük plasmid (PCJ01) tanımlanmış, hatta dizelenmiş ve karakterize edilmiştir. Sonuçlar PCJ01'in, %33.5 'lık G+C içeriğiyle birlikte bir 3212 bp'lik dairesel molekül olduğunu göstermiştir. Bu plasmid, *C. coli* plasmidlerindeki RepA ve RepB proteinleriyle birlikte homolog olan ve bazı virülens transmembran proteinleri için sırayla kodlanan dört açık okuma çerçevesinden (ORF) oluşan bir plazmidir (Luo, Zhang, 2001).

1.9. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Tedavisi

Campylobacter'lere bağlı enteriti olan hastaların büyük çoğunluğu antimikrobiyal tedavi gerekmez, kendiliğinden iyileşmektedir. Sıvı-elektrolit replasmanı diğer enteritli olgularda olduğu gibi tedavinin temelini oluşturmaktadır. Ancak yüksek ateş ve kanlı ishali olan, dışkı sayısı günde 8'den fazla veya ishali bir haftadan daha uzun süren hastalarda, gebelerde, HIV enfeksiyonlu veya diğer immun sistemi baskılanmış olan hastalarda ve ekstra-intestinal tutulumu olan hastalarda antimikrobiyal tedavi önerilmektedir. *Campylobacter*'ler genel olarak makrolid, kinolon, aminoglikozit, tetrasiklin grubu antibiyotiklere ve kloramfenikole duyarlıdır. Yüksek doku düzeyi sağlaması, ciddi toksisitesinin olmaması nedeniyle, eritromisin *Campylobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde ilk kullanılması gereken antibiyotiktir. Endikasyonu olan hastalarda, eritromisinin yetişkinlerde 6 saat ara ile 250 mg; çocuklarda ise dört eşit dozda 30-50 mg/kg/gün olacak şekilde bir hafta süre ile kullanılması önerilmektedir. Eritromisin tedavisinin *Campylobacter*'lerin dışkıdan atılımını hızlandırdığı, relapsları azalttığı, ancak hastalığın süresini etkilemediği bildirilmektedir (Wilke Topçu, Söyletir, Doğanay, 2002). Bunun yanı sıra *Campylobacter* türlerinin, özellikle *C. coli*'nin eritromisine karşı her yıl artan oranlarda direnç geliştirdiği bildirilmektedir. Eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotiklere *C. jejuni* ve *C. coli* nin geliştirdiği direnç, ribozomda antibiyotik hedef bölgesinde oluşan mutasyonların neden olduğu düşünülmektedir. *Campylobacter*'lerin ve diğer enterik patojenlerin neden olduğu ishallerin tedavisinde, kinolon grubu antibiyotiklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak 1995 yılında, kümes hayvanlarında florokinolon kullanımına lisans verilmesi ve bu hayvanlarda yaygın enrofloksasin kullanımının başlaması ile hayvan ve insanlardan izole edilen *Campylobacter* izolatlarının kinolon grubu antibiyotiklere yüksek oranda direnç geliştirdiği bildirilmiştir. Siprofloksasin, eritromisin ve seftriaksona dirençli multidrug rezistans *C. jejuni*' suşlarının varlığı 2005 yılında rapor edilmiştir (D'lima vd., 2007).

Bu çalışmada 2016-2017 tarihleri arasında Kütahya ilinde tüketime sunulan perakende tavuk ürünlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin ve bu türlerde sitoletal distending toksin (*CDT*) genlerinin varlığı araştırılmıştır.



2. MATERYAL METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Örneklerin toplanması

Campylobacter suşlarının izolasyonu için, 2016-2017 tarihleri arasında Kütahya ilinde ticari olarak tüketime sunulan tavuklardan (bütün tavuk, göğüs, but, kanat) ayda iki kez olmak üzere toplam 24 adet satın alındı. Tavuk örneklerinin toplanması esnasında her seferinde farklı marka ürünlerden ve farklı marketlerden örnekleme yapılmasına dikkat edildi.

2.1.2. Besiyerleri

- **mCCDA (Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar)**

Campylobacter izolasyonu ve ön tanımlanması için selektif katı besiyeri olarak mCCDA kullanıldı. Dehidre besiyeri 22.75 g/L olacak şekilde 500 mL distile suda çözüldü, kaynatılarak eritildi ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav sonrası 45-50°C'a soğutulup, 2 mL steril distile suda çözünmüş CCDA Selective supplement (Sefoperazon 16mg, AmfoterisinB 5mg) ilave edildi. Karıştırılıp petrilere döküldü.

- **%20 gliserinli TSB (Tryptone Soya Broth)**

İzole edilen *Campylobacter* şüpheli suşların PZR işlemleri yapılana kadar saklanması amacıyla kullanıldı. Bu amaçla 80 mL distile suya 3 gr besiyeri eklendi, iyice karıştırılıp eritildikten sonra üzerine %20 oranında gliserin ilave edildi. Ependorflara 1 mL olacak şekilde paylaştırıldı. Ependorflar 15 dakika boyunca 121 °C'de otoklavda steril edildi.

- **Blood Agar Base No:2 (CM0271, oxoid)**

Gliserinli TSB'deki şüpheli bakterilerin tekrar canlandırılması amacı ile kullanıldı. 1 L distile suda 40 gr besiyeri eritildi. 15 dakika boyunca 121°C'de otoklavda steril edildi. 45-50°C'ye soğuması beklendi ve %7 steril koyun kanı eklenerek petrilere döküldü.

2.1.3. Moleküler tanı amacıyla kullanılan primerler

Termofilik *Campylobacter* türlerinin moleküler olarak tür tespitlerinin yapılması ve pozitif olduğu saptanan örneklerde *CDT* gen varlığının moleküler olarak araştırılması amacı ile kullanılan primerlere ait oligonükleotid dizileri Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2'de verildi.

Çizelge 2.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin M-PZR ile tür düzeyinde identifikasyonunda kullanılan oligonükleotid dizileri.

Primer	Sekans (5'→3')	Bant büyüklükleri (bp)
CJF	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC	323
CJR	GCCACAACAAGTAAAGAAGC	
CCF	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG	126
CCR	TCCAGCAATGTGTGCAATG	
CLF	TAGAGAGATAGCAAAAGAGA	251
CLR	TACACATAATAATCCACCC	

Çizelge 2.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinde M-PZR ile *CDT* varlığının araştırılmasında kullanılan oligonükleotid dizileri (Asakura vd., 2008).

<i>CdtA</i> Primeri	Sekans (5'→3')	Tür	Bant büyüklükleri (bp)
CjspAU2	AGGACTTGAACCTACTTTTC	<i>C. jejuni</i>	631
CjspAR2	AGGTGGAGTAGTTAAAAACC		
CcspAU1	ATTGCCAAGGCTAAAATCTC	<i>C. coli</i>	329
CcspAR1	GATAAAGTCTCCAAAACCTGC		

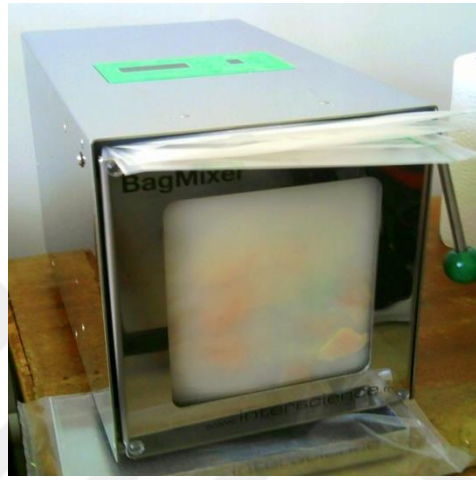
<i>Cdt B</i> Primeri	Sekans (5'→3')	Tür	Bant büyüklükleri (bp)
CjSPBU5	ATCTTTTAACCTTGCTTTTGC	<i>C. jejuni</i>	714
CjSPBR6	GCAAGCATTAAAATCGCAGC		
CcSPBU5	TTTAATGTATTATTGCGCGC	<i>C. coli</i>	413
CcSPBR5	TCATTGCCTATGCGTATG		

<i>CdtC</i> Primeri	Sekans (5'→3')	Tür	Bant büyüklükleri (bp)
CjspCU1	TTTAGCCTTTGCAACTCCTA	<i>C. jejuni</i>	524
Cjspzr2	AAGGGGTAGCAGCTGTAA		
CcspCU1	TAGGGATATGCACGCAAAG	<i>C. coli</i>	313
Ccspzr1	GCTTAATACAGTTACGATAG		

2.2. Metod

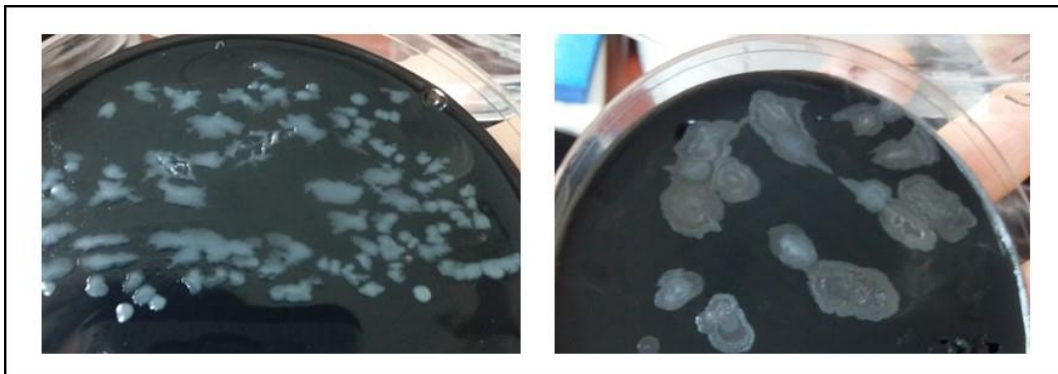
2.2.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu

Kütahya merkez bölgesinde, farklı marketlerden, farklı tarihlerde alınan 24 adet tavuk etiaseptik koşullar altında laboratuvara getirildi. Her bir örnekten 25 gr alınarak 225 ml steril fizyolojik tuzlu su ile homojenizatörde (stomacher) (Interscience- BagMixer 400W) parçalandı.



Şekil 2.1. Tavuk örneklerinin steril filtreli poşet içerisinde stomacherde parçalanması.

Parçalanan tavuklardan elde edilen filtrattan 30 µl alınarak mCCDA besi yerine aktarıldı ve dragalski spatülü ile yayma ekimleri gerçekleştirildi. Besi yerinin yüzeyi kuruyana kadar beklendikten sonra petriler jarlara konularak, mikroerofilik olarak 42°C’de inkübasyona kaldırıldı. 3-4 günlük inkübasyon sonucunda meydana gelen beyaz gri koloniler (Şekil 2.1) saflaştırılarak moleküler tanıda kullanılmak üzere %20’lik gliserinli TSB’de -20°C’de saklandı.



Şekil 2.2. mCCDA selektif besi yerinde üreyen *Campylobacter* şüpheli suşların makroskopik morfolojileri.

2.2.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin ve CDT geninin MPZR ile tanısı

Campylobacter şüpheli suşlar, moleküler analizleri gerçekleştirilmek üzere -20°C’de gliserinli TSB’den %7 koyun kanlı agara ekilerek mikroaerofilik olarak inkübe edildi. Üreyen kolonilere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

DNA ekstraksiyonu

İki mililitrelik ependorflar içerisine 300µl saf su konularak otoklavlandı. Bu ependorflara, bir öze dolusu bakterinin süspansiyonu yapıldı. Ependorflar daha sonra kaynar suyun içerisine konularak 20 dakika bekletildi. Ardından, 10.000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. 200 µl süpernatant alınıp yeni bir ependorfa aktarıldı. DNA örnekler PZR ile amplifikasyon işleminde kalıp olarak kullanılıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Tür tespitinde m-PZR

Termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda m-PZR’den yararlanıldı. Tür tespitinde kullanılan primer dizileri ve beklenen bant büyüklükleri Çizelge 2.1.’de verildi. Tür tespitinde kullanılan m-PZR işlemi kısaca 25 µl’lik toplam hacimde gerçekleştirildi. Bu amaçla, 2 mM MgCl₂, 50mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 0.2 mM dNTP karışımı, 0.5 µM *C. jejuni* ve *C. lari* primerleri, 1 µM *C. coli* primerinden, 1.25 U taqpolimeraz enzimi ve 2.5 µl hedef DNA kullanıldı. Amplifikasyon 95 °C’de 6 dakika ilk denatürasyon ve ardından 30 siklus 95 °C’de 30 saniye denaturasyon, 57 °C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72 °C’de 30 saniye uzatma şeklinde gerçekleştirildi.

CDT gen varlığının araştırılmasında m-PZR

Campylobacter jejuni türünde *Cdt* genin taranmasında, 10 X PZR buffer (500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 100 mM TRIS-HCl, pH 9.0); 1.5 mM MgCl₂; 200 mM dNTPs, Çizelge 2.2 de *C. jejuni* için yer alan her bir primerden 20 pmol (*CjspaU2*, *CjspaR2*, *CjSPBU5*, *CjSPBR6*, *CjspaCU1* and *CjspaR2*); 1.0 U Taq DNA polimeraz ve 3µL DNA kullanıldı. m-PZR işlemi toplamda olarak 50 µl’lik hacimde çalışıldı. Amplifikasyon amacıyla örnekler thermalcycler’a yerleştirildi. 94°C’de 5 dk. ön denatürasyon, ardından 32 siklus 94°C’de 30 sn, 55°C’de 30 sn ve 72°C’de 30 sn denatürasyon, birleşme ve uzama işlemlerini takiben 72°C’de 10 dk. son uzatma işlemi uygulandı.

C. coli *Cdt* geninin taranmasında ise, yine aynı protokol uygulanmasına rağmen kullanılan primerler *CcspaU1*, *CcspaR1*, *CcSPBU5*, *CcSPBR5* ve *CcSPBU5*, *CcSPBR5*, *CcspaCU1*, *CcspaR1* olarak Çizelge 2.2’deki gibi değiştirildi (Asakura vd., 2008).

Elektroforez:

Amplifikasyon işlemi sonrasında oluşan ürünlerin varlığını gösterebilmek amacı ile ampikonlar agaroz jel içerisinde elektroforez işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla 0.5xTBE solüsyonu ile %1'lik agaroz jel hazırlandı. Jel içerisine ethidiumbromid ilave edildi. Ampikonlar parafilm üzerinde 6xjel loadingbuffer ile karıştırılarak jel üzerindeki kuyucuklara yüklendi. 1.kuyuya DNA markeri (Fermentas O'Range Ruler, 100bp Ladder) ve diğer kuyulara her birine bir örnek olacak şekilde bu karışımdan 10µl yükleme yapıldı. Tankın güç kaynağı çalıştırılarak 120 V akım verildi.



3. BULGULAR

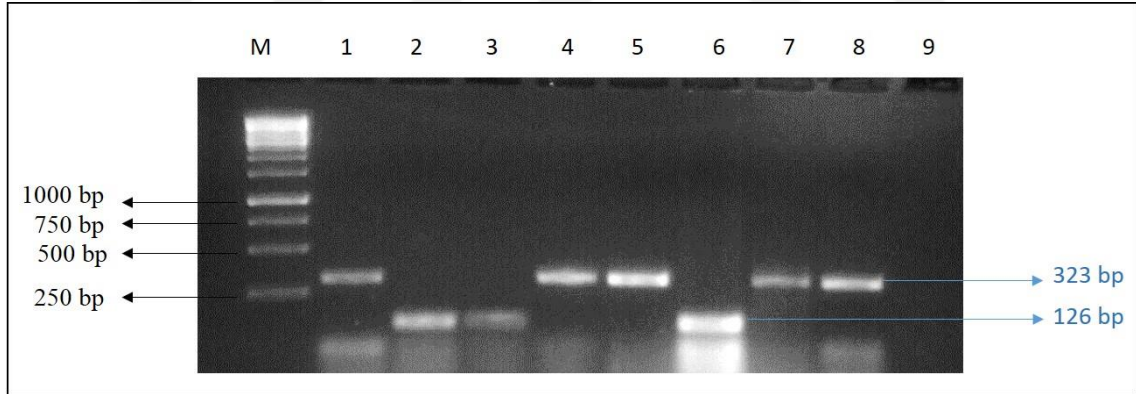
3.1. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyonu

İncelenen 24 adet örneğin mCCDA besisi yerine ekimleri sonucu makroskopik morfoloji kriterlerine göre, *Campylobacter* yönünden şüpheli olduğu varsayılan 19 adet örnek tespit edildi. Bu örnekler moleküler olarak tür tespitlerinin yapılması amacı ile MPZR işlemine tabi tutuldu.

3.2. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin ve *CDT* Geninin MPZR ile Tanısı

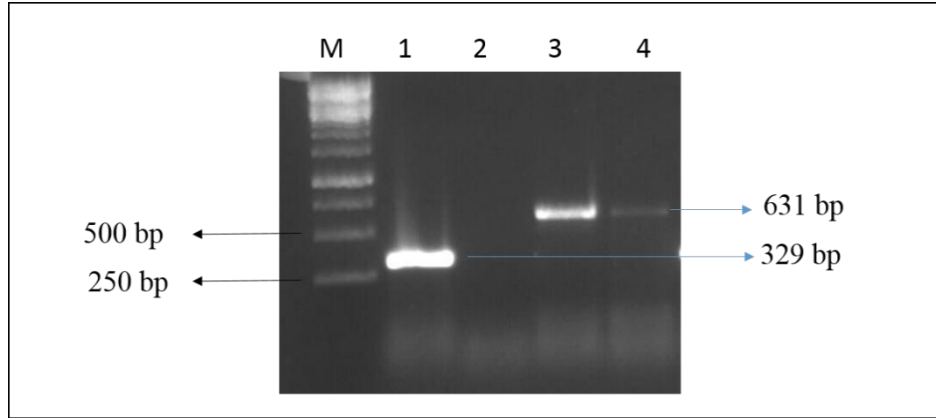
Makroskopik morfolojilerine göre *Campylobacter* yönünden şüpheli olduğu varsayılan 19 adet örneğin 7'si *C. jejuni*, 4'ü *C. coli* olarak tanımlanıp, 8 örnek ise MPZR ile *Campylobacter* yönünden negatif olarak saptandı (Şekil 3.1).

Sonuç olarak 24 adet örnekte, 11 adet (%45.8) *Campylobacter* türü moleküler olarak karakterize edildi. Bu etkenler tür bazında değerlendirildiğinde incelenen örneklerde %29.2 oranında *C. jejuni*, %16.6 oranında *C. coli* varlığı tespit edildi (Çizelge 3.1, Çizelge 3.2).

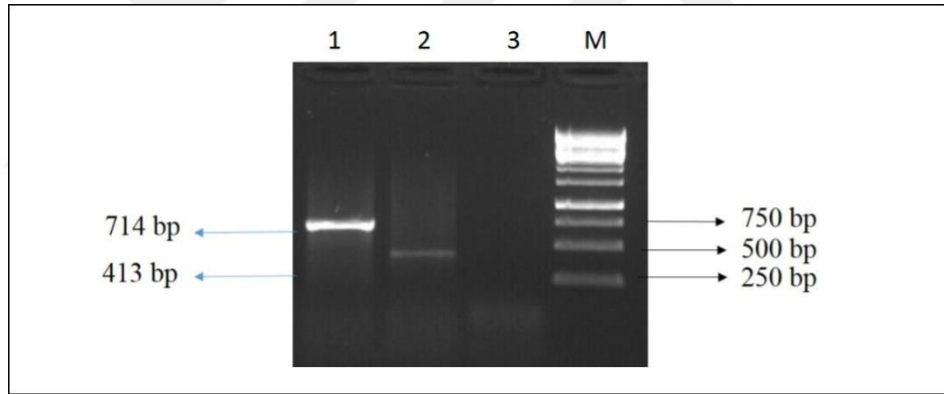


Şekil 3.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin M-PZR sonuçları.

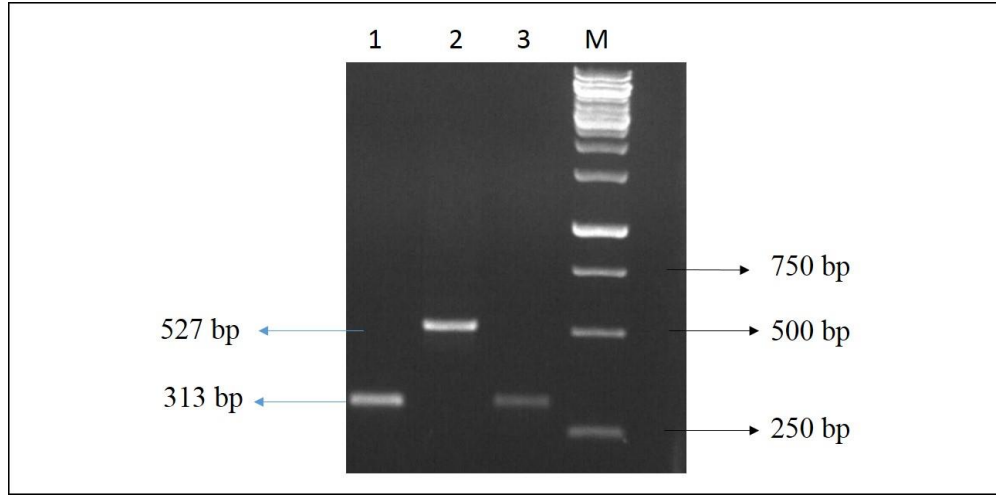
Campylobacter yönünden pozitif olduğu MPZR ile doğrulanan örnekler *Cdt* genleri yönünden değerlendirildiğinde (şekil 3.2, şekil 3.3, şekil 3.4), suşların %90.9'unda *Cdt A* ve *Cdt C* genleri saptanırken, %81.8'inde *Cdt B* geni tespit edildi. *Cdt* genlerinin bakteri türlerine göre dağılımları incelendiğinde, *C. jejuni* 'de *Cdt A* ve *Cdt C* genlerinin bulunma oranları (6 adet) %85.7 *Cdt B* geninin ise %71.4 olduğu görüldü. *C. coli* 'de ise bu üç toksin geninin tüm suşlarda var olduğu (%100) tespit edildi (Çizelge3.1, Çizelge 3.2).



Şekil 3.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinde *Cdt A* genlerinin MPZR sonuçları. *C. jejuni* için amplifiye olan *Cdt A* genine ilişkin beklenen baz büyüklüğü 631 bp, *C. coli* için ise 329 bp'dır. 1, 2, 3 ve 4 nolu örnekler C16 (*C. coli*), C18 (Negatif), C30 (*C. jejuni*) ve C21 (*C. jejuni*) kodlu örneklerle karşılıktır.



Şekil 3.3. Termofilik *Campylobacter* türlerinde *Cdt B* genlerinin MPZR sonuçları. *C. jejuni* için amplifiye olan *Cdt B* genine ilişkin beklenen baz büyüklüğü 714 bp, *C. coli* için ise 413 bp'dır. 1, 2 ve 3 nolu örnekler C13 (*C. jejuni*), C16 (*C. coli*) ve C18 (negatif) kodlu örneklerle karşılıktır.



Şekil 3.4. Termofilik *Campylobacter* türlerinde *Cdt* genlerinin MPZR sonuçları. *C. jejuni* için amplifiye olan *Cdt C* genine ilişkin beklenen baz büyüklüğü 527 bp, *C. coli* için ise 313 bp'dır. 1, 2 ve 3 nolu örnekler C7 (*C. coli*), C10 (*C. jejuni*) ve C23 (*C. coli*) kodlu örneklerle karşılıktır.

Çizelge 3.1. Kültür işleminde *Campylobacter* yönünden şüpheli olduğu tespit edilen kolonilerin tür ve *Cdt* toksin genleri yönünden moleküler tanı sonuçları (Gri alanlar tür tespitinde MPZR sonuçlarının negatif olduğunu ifade etmektedir).

No	Kod	mPZR Sonuçları			
		Tür	<i>Cdt</i> geni		
			<i>Cdt A</i>	<i>Cdt B</i>	<i>Cdt C</i>
1	C1	-			
2	C2	<i>C. jejuni</i>	+	+	+
3	C3	-			
4	C5	-			
5	C6	-			
6	C7	<i>C. coli</i>	+	+	+
7	C9	<i>C. coli</i>	+	+	+
8	C10	<i>C. jejuni</i>	+	+	+
9	C13	-			
10	C14	-			
11	C15	<i>C. jejuni</i>	+	+	+
12	C16	<i>C. coli</i>	+	+	+
13	C18	<i>C. jejuni</i>	-	-	-
14	C19	-			
15	C20	<i>C. jejuni</i>	+	+	+
16	C21	<i>C. jejuni</i>	+	-	+
17	C22	-			
18	C23	<i>C. coli</i>	+	+	+
19	C24	<i>C. jejuni</i>	+	+	+

Çizelge 3.2. MPZR sonrası *Campylobacter* türlerinin ve *Cdt* toksin genlerinin dağılımı (%).

	MPZR Sonuçları			
	Tür	<i>Cdt</i> geni		
		<i>Cdt A</i>	<i>Cdt B</i>	<i>Cdt C</i>
<i>C. jejuni</i>	7 (% 29.2)	6 (%85.7)	5 (%71.4)	6 (%85.7)
<i>C. coli</i>	4 (%16.6)	4 (%100)	4 (%100)	4 (%100)
Total (24)	11 (%45.8)	10 (%90.9)	9 (%81.8)	10 (%90.9)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tavuk eti insan sağlığı açısından önemli bir protein kaynağıdır. Ülkemizde ucuz olmasından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Çeşitli şekillerde pişirilerek tüketilen tavuk etleri yeterli ısı işlemi uygulanmadığında bakteriyel gıda patojenleri açısından tehlike oluşturabilmektedir. Bu etkenlerin başında *Campylobacter* türleri gelmektedir. Özellikle termofilik *Campylobacter*'ler, sahip oldukları toksinler ile tavuk eti kaynaklı gıda zehirlenmelerine yol açabilmektedirler.

Bu tez çalışmasında, Kütahya ilinde çeşitli marketlerden temin edilen tavuk örneklerinde *Campylobacter* varlığı ve toksin genleri araştırıldı. Elde edilen bulgular ülkemizde ve yurtdışında yapılan benzer araştırma bulguları ile karşılaştırıldı. Türkiye'de incelenen tavuk eti örneklerinde bulunan termofilik *Campylobacter*'lerin durumunun değerlendirildiği çalışma sonuçları aşağıda Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Türkiye'de incelenen tavuk eti örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunma oranları.

Örnek türü	Pozitif örnek sayısı (%)	Şehir	Referans
Tavuk Eti	81.7	İstanbul	Yıldırım (1995)
	96	İstanbul	Dizgah (1995)
	~ 100	Kars	Gülmez (1999)
	92	Bursa	Günşen (2004)
	67.1	Afyon	Pamuk (2006)
	77	Konya	Minnar ve Doğuer (2006)
	56	Kayseri	Aydin vd. (2007)
	64.5	Ankara	Koluman (2010)
	30.5	Adana ve Mersin	Çıbık vd. (2014)
	81	Kayseri	Hızlısoy ve Kılıç (2015)

Bazı ülkelerde, incelenen tavuk eti örneklerinde bulunan termofilik *Campylobacter*lerin durumunun değerlendirildiği çalışma sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. *Campylobacter* izolasyon sonuçları oranları ülkelere göre çeşitlilik göstermektedir.

Çizelge 4.2. Bazı ülkelerde tavuk eti örneklerinde termofilik *Campylobacter* izolasyon oranları.

Örnek türü	Pozitif örnek sayısı (%)	Ülke	Referans
Tavuk eti	67	Amerika	Eyigör vd. (1999)
	99	Kuzey İrlanda	Moore vd. (2002)
	83.9	Trinidad	Rodrigo vd. (2005)
	73.1	Galler	Meldrum vd. (2005)
	100	Japan	Jeon vd. (2005)
	57.6	Polonya	Rozynek vd. (2005)
	61.8	Kore	Kang vd. (2006)
	68.3	Kore	Han vd. (2007)
	45.4	İtalya	Prencipe vd. (2007)
	60.3	Portekiz	Mena vd. (2008)
	97.5	Bangladeş	Talukder vd. (2008)
	10.8	Brezilya	Carvalho vd. (2013)
	100	Estonya	Maesaar vd. (2016)

Bu çalışma sonucuna göre, toplanan 24 adet örnekte, 11 adet (%45.8) *Campylobacter* türü MPZR ile karakterize edildi. Bu etkenler tür bazında değerlendirildiğinde incelenen örneklerde % 29.2 oranında *C. jejuni*, %16.6 oranında *C. coli* varlığı tespit edildi. *C. lari* ise saptanamadı.

Yapılan çalışmalar, kümes hayvanlarının karkaslarının kontaminasyonunun, çoğunlukla kesim esnasında, daha çok haşlanma ve barsaklarını çıkarma sırasında, karkasın yüzeyi barsak mikroorganizmaları ile temas halindeyken meydana geldiğini göstermektedir. Yapılan bu çalışmada da prevalans oranlarının düşük olmasının sebebinin kesim esnasındaki hijyenik kurallara uyulmasından kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Gıda orijinli termofilik *Campylobacter*ler türleri sahip oldukları toksinler ile halk sağlığını tehdit etmektedirler. Bazı ülkelerde *Campylobacter* türlerinin içermiş olduğu *Cdt A*, *Cdt B* ve *Cdt C* toksin genlerinin varlığının değerlendirildiği çalışma sonuçları aşağıda (Çizelge 4.3) verilmiştir.

Çizelge 4.3. Tavuk karkaslarından izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin içermiş olduğu *Cdt A*, *Cdt B* ve *Cdt C* toksin genlerinin dünyadaki durumu.

Ülke	Referans	<i>Cdt A</i> (%)	<i>Cdt B</i> (%)	<i>Cdt C</i> (%)	<i>Cdt ABC</i>	Bakteri türü
Polonya	Rozynek vd. (2008)	94.2 68.2	94.2 92.9	94.2 81.2		<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i>
Polonya	Rozynek vd. (2010)				100	<i>C. jejuni</i>
Brezilya	Aline Feola de Carvalho vd. (2013)		10	10	80	<i>C. jejuni</i>
Tayland	Samornsuk vd. (2007)				95	<i>C. jejuni</i>
Denmark	Bang vd. (2001)		100 100			<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i>
Spain	Martinez vd. (2006)				98	<i>C. jejuni</i>
Turkey	Findik ve vd. (2011)				39	<i>C. jejuni</i>

Dünyada yapılan bu çalışmalar göz önünde bulundurularak, her üç genin varlığının tespit edilmesi durumunda, suşların potansiyel virulens oldukları söylenebilir. Dolayısıyla bu üç genin bulunması, tavuk etleriyle temas eden insanlarda patojenite göstererek diareye sebep olabileceğini gösterir.

Bu çalışmada, suşların %90.9'unda *Cdt A* ve *Cdt C* genleri saptanırken, %81.8'inde *Cdt B* geni tespit edildi. *Cdt* genlerinin bakteri türlerine göre dağılımları incelendiğinde *C. jejuni*'de *Cdt A* ve *Cdt C* genlerinin bulunma oranları %85.7 *Cdt B* geninin ise %71.4 olduğu görüldü. *C. coli*'de ise bu üç toksin geninin tüm suşlarda var olduğu (%100) tespit edildi. Yapılan çalışmalar, bazı *C. jejuni* türlerinde *Cdt* genlerinin nükleotid delesyonu, insersiyon, yer değiştirme gibi mutasyonlara maruz kalarak, toksin genlerini ve toksin aktivitelerini kaybettiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, Kütahya ilinde satışa sunulan tavuklarda toksin genleri ihtiva eden *Campylobacter* türleri saptanmış olup, bu ürünlerin yeterli ısı işlemi uygulanmadan tüketilmesi durumunda, halk sağlığı için risk taşıyabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aarts, H. J. M., Van Lith, L. A. J. T., ve Jacobs-Reitsma, W. F. (1995), Discrepancy between Penner serotyping and polymerase chain reaction fingerprinting of *Campylobacter* isolated from poultry and other animal sources. *Lett. Appl. Microbiol.* 20, 371–374.
- Abeyta, C., Trost, P. A., Bark, D. H., Hunt, J. M., Kaysnet, C. A., ve Wekell, M. M. (1997), The use of bacterial membrane fractions for the detection of *Campylobacter* species in shellfish. *J. Rapid Methods Autom. Microbiol.* 5, 223–247.
- ACMSF (2004), Second Report on *Campylobacter*. London: Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food.
- Adıgüzel, A., İnan, K., Şahin, F., Arasoğlu, T., Güllüce M., Beldüz, A. O., Barış, Ö. (2011), Pasinler kaplıcasından izole edilen termofilik bakterilerin moleküler farklılıkları. *Turk. J. Biol.*, 35: 267-274.
- Adkin, A., Hartnett, E., Jordan, L., Newell, D., ve Davidson, H. (2006), Use of systematic review to assist the development of *Campylobacter* control strategies in broilers. *J. Appl. Microbiol.* 100, 306–315.
- Akçalı, A., Levent, B., Akbaş, E., Esen, B. (2008), Türkiye'nin bazı illerinde izole edilen *Shigella sonnei* suşlarının antimikrobiyal direnç ve "Pulsed Field" jel elektroforezi yöntemleri ile tiplendirilmesi. *Mikrobiyol. Bül.*, 42: 563-572.
- Allos, B. M. (2001), *Campylobacter* jejuni infections: update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis.* 32, 1201–1206.
- Anonymous. (2010). Preliminary FoodNet Data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 states, 2009. *Weekly MMWR.* April 16, 2010/59(14); 418–422.
- Arda, M. (1995), Biyoteknoloji (Bazı temel ilkeler), Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Ankara.
- Atabay, H. I., ve Corry, J. E. (1998), The isolation and prevalence of campylobacters from dairy cattle using a variety of methods. *J. Appl. Microbiol.* 84, 733–740.
- Aydın, F., Gümüşsoy, K.S., İca, T., Sümerkan, B., Eşel, D., Akan, M., (2007), The Prevalence of *Campylobacter* jejuni in Various Sources in Kayseri, Turkey, and Molecular Analysis of Isolated Strains by PZR-RFLP, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(1): 13-19.
- Bacon, D. J., Alm, R. A., Burr, D. H., Hu L., Kopecko, D. J., Ewing, C., P., Trust, T. J. ve Guerry, P. (2000), Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter* jejuni 81-176 *Infect Immun.* 68: 4384-90.
- Baldwin, A., Loughlin, M., Caubilla Barron, J., Kucerova, E., Manning, G., Dowson, C., Forsythe, S. (2009), Multilocus sequence typing of *Cronobacter sakazakii* and *Cronobacter malonaticus* reveals stable clonal structures with clinical significance which do not correlate with biotypes. *BioMed Central Microbiol.*, 9: 223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bang, D. D., Neilsen, E. M., Scheutz, F., Pedersen, K., Handberg, K., Madsen, M. (2003), PZR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytolethal distending toxin production of the isolates. *J Appl Microbiol*, 94: 1003-14.
- Bang, D. D., Scheutz, F., Ahrens, P., Pedersen, K., Blom, J., ve Madsen, M. (2001), Prevalence of cytolethal distending toxin (*Cdt*) genes and *CDT* production in *Campylobacter* spp. isolated from Danish broilers. *J. Med. Microbiol.* 50, 1087–1094.
- Baylis, C. L., MacPhee, S. A., Martin, K. W., Humphrey, T. J., ve Betts, R. P. (2000), Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods. *J. Appl. Microbiol.* 89, 884–891.
- Berrang, M. E., Buhr, R. J., Cason, J. A., ve Dickens, J. A. (2001), Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.* 64, 2063–2066.
- Bhavsar, S., Kapadnis, B. (2006), *Virulence factors of Campylobacter*. The Internet Journal of Microbiology. C.3, S.2.
- Birren, B., Eric, L. (1993), Pulsed Field Gel Electrophoresis: A Practical Guide, Academic Press Inc. San Diego, California.
- Blaser, M. J., Berkowitz, I. D., La Force, F. M., Cravens, J., Reller, L. B., ve Wang, W. L. L. (1979), *Campylobacter* enteritis: clinical and epidemiological features. *Ann. Int. Med.* 91, 179–185.
- Bottger, E. C. (1989), Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *FEMS Microbiol. Let.*, 65: 171–176.
- Brown, P. E., Christensen, O. F., Clough, H. E., Diggle, P. J., Hart, C. A., Hazel, S., Kemp, R., Leatherbarrow, A. J. H., Moore, A., Sutherst, J., Turner, J., Williams, N. J., Wright, E. J., ve French, N. P. (2004), Frequency and spatial distribution of environmental *Campylobacter* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 6501–6511.
- Bruce, J. P., Ronald, J. B. (1986), Chemotactic response to formate by *Campylobacter concisus* and its potential role in gingival colonization. *Infec Immun*, 52: 378-83.
- Butzler, J. P., ve Oosterom, J. (1991), *Campylobacter*: pathogenicity and significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 12, 1–8.
- Callicott, K. A., Friðriksson, V., Reiersen, J., Lowman, R., Bisai, J., Gunnarsson, E., Berndtson, E., Hiett, K. L., Needleman, D. S., ve Stern, N. J. (2006), Lack of evidence for vertical transmission of *Campylobacter* spp. in chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 5794–5798.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Carrillo, C. D., Taboada, E., Nash, J. H. E., Lanthier, P., Kelly, J., Lau, P. C., Verhulp, R., Mykytczuk, O., Sy, J., Findlay, W. A., Amoako, K., Gomis, S., Willson, P., Austin, J. W., Potter, A., Babiuk, L., Allan, B., ve Szy- manski, C. M. (2004), Genome-wide expression analyses of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 reveals coordinate regulation of motility and virulence by *flhA*. J. Biol. Chem. 279, 20327–20338.
- Carrillo, C. L., Atterbury, R. J., El- Shibiny, A., Connerton, P. L. Scott, A., ve Connerton, I. F. (2005), Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. Appl. Environ. Microbiol. 71,6554–6563.
- Carvalho, A. F., Silva, D. M., Azevedo, S. S., Piatti, R. M., Genovez, M. E., Scarcelli, E., (2013), Detection of *CDT* toxin genes in *Campylobacter* spp. strains isolated from broiler carcasses and vegetables in São Paulo, Brazil, Brazilian Journal of Microbiology 44,3, 693-699, Brazil.
- Carvalho, C. M., Gannon, B. W., Halfhide, D. E., Santos, S. B., Hayes, C. M., Roe, J. M., ve Azeredo, J. (2010), The in vivo efficacy of two administration routes of a phage cocktail to reduce numbers of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in chickens. BMC Microbiol. 10, 232. doi: 10.1186/1471- 2180-10-232.
- CAST. (1994), Foodborne Pathogens: Risk and Consequences. Task Force Report No. 122. The Council for Agricultural Science and Technology, Iowa State University, Ames, IA,87 pp.
- Champion, O. L., Best, E. L., Frost, J. A. (2002), Comparison of pulsedfield gel electrophoresis and amplified fragment length polymorphism techniques for investigating outbreaks of enteritis due to *Campylobacters*. J. Clin Microbiol. 40:2263–2265.
- Cibik, E., Aslan, S., Özmen, M., Akilli, H., Turut, N., Yoldaş, A., Gökmen, T. G., Meral, M., (2014), Adana yöresinde, Broyler işletmelerinde *Campylobacter colive Campylobacter jejuni'nin* insidansı, antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi, AVKAE Dergisi, 2014,4,1-8.
- Clark, A. G., ve Bueschkens, D. H. (1985), Laboratory infection of chicken eggs with *Campylobacter jejuni* by using temperature or pressure differentials. Appl. Environ. Microbiol. 49, 1467–1471.
- Cogan, T. A., Bloomfield, S. F., ve Humphrey, T. J. (1999), The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. Lett. Appl. Microbiol. 29, 354–358.
- Corry, J. E. L., Post, D. E., Colin, P., ve Laisney, M. J. (1995), Culture media for the isolation of *Campylobacters*. Int. J. Food Microbiol. 26,43–76.
- Corry, J. E. L., ve Atabay, H. I. (1997), Comparison of the productivity of cefoperazone amphotericin teicoplan (CAT) agar and modified charcoal cefoperazone deoxycholate (mCCD) agar for various strains of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter pullorum*. Int. J. Food Microbiol. 38,201–219.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Corry, J. E. L., ve Atabay, H. I. (2001), Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J. Appl. Microbiol.* 90,96S–114S.
- Cox, N. A., Richardson, L. J., Buhr, R. J., ve Fedorka-Cray, P. J. (2010), *Campylobacter* can remain in various organs. *Front Microbiol.* 2011;2:200.
- De Boer, P., Duim, B., Rigter, A., van der Plas, P. J., Jacobs-Reitsma, W. F., Wagenaar, J. A. (2000), Computerassisted analysis and epidemiological value of genotyping methods for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Clin Microbiol.* 38:1940–1946.
- De Cesare, A., Sheldon, B. W., Smith, K. S., ve Jykus, L. A. (2003), Survival and persistence of *Campylobacter* and *Salmonella* species under varying organic loads on food contact surfaces. *J. Food Prot.* 66, 1587–1594.
- Dingle, K. E., Colles, F. M., Wareing, D. R. A., Ure, R., Fox, A. J., Bolton, F. E. (2001), Multilocus Sequence Typing System for *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol* 39:14-23.
- Dizgah, D. G. (1995), İstanbul piyasasında satışa sunulan kanatlı eti ve ürünlerinde *Campylobacter jejuni*'nin varlığı üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- D'lima, C. B., Miller, W. G., Mandrell, R. E., Wright, S. L., Siletzky, R. M., Carver, D. K., Kathariou, S. (2007), Clonal Population Structure and Specific Genotypes of Multidrug-Resistant *Campylobacter coli* from Turkey. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 2156-2164.
- Doyle, L. P. A. (1944), *Vibrio* associated with swine dysentery. *Am J. Vet Res.*; 5:3–5.
- Doyle, M. P., ve Roman, D. J. (1982), Recovery of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from inoculated foods by selective enrichment. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 1343–1353.
- Duke, L. A., Breathnach, A. S., Jenkins, D. R., Harkis, B. A., ve Codd, A. W. (1996), A mixed outbreak of *Cryptosporidium* and *Campylobacter* infection associated with a private water supply. *Epidemiol. Infect.* 116, 303–308.
- EFSA. (2006), The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European union in 2005. *EFSA J.* 94, 1–62.
- EFSA. (2007), The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European union in 2006. *EFSA J.* 130,130–155.
- EFSA. (2009), The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European union in 2007. *EFSA J.* 223, 223–440.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

EFSA. (2010a), Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA J. 8, 1437– 1526.

EFSA. (2010b), The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European union in 2008. EFSA J. 8, 1496–1906.

EFSA. (2011), Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA J. 9, 2105–2246.

Ellebroek, L., Lienau, J. A., Alter, T., ve Schlichting, D. (2007), Effectiveness of different chemical decontamination methods on the *Campylobacter* load of poultry carcasses. *Fleischwirtschaft* 87, 224–227.

El-Shibiny, A., Connerton, P. L., ve Connerton, I. F. (2005), Enumeration and diversity of campylobacters and bacteriophages isolated during the rearing cycles of free-range and organic chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1259–1266.

Eyigor, A., Dawason, K. A., Langlois, B. E., Pickett, C. L. (1999), Detection of cytolethal distending toxin activity and *Cdt* genes in *Campylobacter* spp. isolates from chicken carcasses. *Appl Environ Microbiol.* 65:1501–1505.

Fauchere, J. L., Rosenau, A., Veron, M., Moyen, E. N., Richard, S., Pfister, A. (1986), Association with Hela cells of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from human feces. *Infect Immun*, 54: 283-87.

Federighi, M., Magras, C., Pilet, M. F., Woodward, D., Johnson, W., Jugiau, F., ve Jouve, J. L. (1999), Incidence of thermotolerant *Campylobacter* in foods assessed by NF ISO 10272 standard: results of a two-year study. *Food Microbiol.* 16, 195–204.

Forsythe, S. J. (2000), “Food poisoning microorganisms,” in *The Microbiology of Safe Foods*, ed. S. J. Forsythe (Abingdon: Blackwell Science Publishers), 87–148.

Friedman, C. R., Neimann, J., Wegener, H. C., ve Tauxe, R. V. (2000), “Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations,” in *Campylobacter*, 2nd Edn, eds I. Nachamkin and M. J. Blaser (Washington, DC: American Society for Microbiology), 121–138.

Frost, J. A., Gillespie, I. A., ve O’Brien, S. J. (2002), Public health implications of *Campylobacter* outbreaks in England and Wales, 1995-9: epidemiological and microbiological investigations. *Epidemiol. Infect.* 128, 111–118.

Galate1, L., Bangde, S. (2013), *Campylobacter – A Foodborne Pathogen*, Head of the Department, Microbiology, infeXn laboratories Pvt Ltd, Maharashtra, International Journal of Science and Research (IJSR) ISSN (Online): 2319-7064, India.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gaudreau, C., Gilbert, H. (2003), Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* Strains Isolated from Humans in 1998 to 2001 in Montréal, Canada. *Antimicro Agent Chemo* 47: 2027-29.
- Gibreel, A., Skold, O. (1998), High level resistance to trimethoprim in clinical isolates of *Campylobacter jejuni* by acquisition of foreign genes (*dfr1* and *dfr 9*) expressing drug insensitive dihydrofolate reductases. *J Antimicro Chemo*, 42: 3059-64.
- Gondo, T., Sekizuka, T., Manaka, N., Murayama, O., Millar, B. C., Moore, J. E., Matsuda, M. (2006), Demonstration of the shorter flagellin (*flaA*) gene of urease-positive thermophilic *Campylobacter* isolated from the natural environment in Northern Ireland. *Folia Microbiol*, 51: 183-90.
- Grant, C. C. R., Michael, E., K., Witold, C. J. R., Lucy, S. T. (1993), Role of flagella in adherence, internalization and translocation of *Campylobacter jejuni* in non polarized and polarized epithelial cell cultures. *Infec Immun*, 61: 1764-71.
- Grant, C. C. R., Michael, E., K., Witold, C. J. R., Lucy, S. T. (1993), Role of flagella in adherence, internalization and translocation of *Campylobacter jejuni* in non polarized and polarized epithelial cell cultures. *Infec Immun*, 61: 1764-71.
- Gülmez, M., (1999), *Campylobacter jejuni* izolasyonunda kullanılan bazı kültürel teknikler ve tavuk etlerinde termofilik *Campylobacter*'lerin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 5, 145-153.
- Günşen, U., (2004), Bursa il merkezi'nde satışa sunulan tavuk eti ve ürünlerinde termotolerant *Campylobacter* türlerinin varlığı. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi* 6, 8-15.
- Hald, B., Rattenborg, E., ve Madsen, M. (2001), Role of batch depletion of broiler houses on the occurrence of *Campylobacter* spp. in chicken flocks. *Lett. Appl. Microbiol.* 32, 253–256.
- Han, K., Jang, S. S., Choo, E., Heu, S., Ryu, S. (2007), Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from retail raw chickens in Korea. *International Journal of Food Microbiology* 114, 50-59.
- Hariharan, H., Murphy, G. A., ve Kempf, I. (2004). *Campylobacter jejuni*: public health hazards and potential control methods in poultry: a review. *Vet. Med.* 49, 441–446.
- Havelaar, A. H., Nauta, M. J., Mangen, M. J. J., de Koeijer, A. G., Bogaardt, M. J., Evers, E. G., Jacobs-Reitsma, W. F., van Pelt, W., Wagenaar, J. A., de Wit, G. A., ve van der Zee, H. (2005), Costs and Benefits of Controlling *Campylobacter* in the Netherlands; Integrating Risk Analysis, Epidemiology and Economics. RIVM report 250911009/2005.
- Hendrixson, D. R., ve DiRita, V. J. (2004), Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. *Mol. Microbiol.* 52, 471–484.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hızlısoy, H., Kılıç, H., (2015), Broiler karkaslarından izole edilen campylobacter jejuni izolatlarının makrolid, kinolon ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı direnç durumu, Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University, Araştırma Makalesi 12(2), 81-92.
- Horrocks, S. M., Anderson, R. C., Niels- bet, D. J., ve Ricke, S. C. (2009), Incidence and ecology of Campylobacter jejuni and coli in animals. Anaerobe 15, 18–25.
- Hughdahl, M. B., John, T. B., Michael, P. D. (1988), Chemotactic behavior of Campylobacter jejuni. Infec Immun, 1988; 56: 1560-66.
- Humphrey, T., O'Brien, S., ve Madsen, M. (2007), Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. Int. J. Food Microbiol. 117,237–257.
- ISO. (2006a), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of Campylobacter spp. Part 1: Detection Method. Geneva: International Organization for Standardization. [ISO 10272-1:2006].
- ISO. (2006b), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of Campylobacter spp. Part 2: Colony Count Technique. Geneva: International Organization for Standardization. [ISO/TS 10272- 2:2006].
- Jeon, B., Itoh, K., Ryu, S. (2005), Promoter analysis of Citolethal Distending Toxin genes (*Cdt A, B and C*) and effect of a *luxS* mutation on *CDT* production in *Campylobacter jejuni*. Microbiol Immunol. 49:599–603.
- Kang, Y. S., Cho, Y. S., Yoon, S. K., Yu, M. A., Kim, C. M., Lee, J. O., Pyun, Y. R. (2006), Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from raw chicken meat and human stools in Korea. Journal of Food Protection 69, 2915-2923.
- Kapperud, G., Skjerve, E., Bean, N. H., Ostroff, S. M., ve Lassen, J. (1992), Risk factors for sporadic Campylobacter infections: results for a case control study in southeastern Norway. J. Clin. Microbiol. 30, 3117–3121.
- Kazwala, R. R., Collins, J. D., Hannan, R. A., ve Crinion, H. O. M. (1990), Factors responsible for the introduction and the spread of Campylobacter jejuni in commercial poultry production. Vet. Rec. 121, 305–306.
- Koluman, A. (2010), Detection of Campylobacter jejuni Contamination in Poultry Houses and Slaughterhouses. Turk Hij Den Biyol Derg 67: 57-64.
- Lee, A., Smith, S. C., ve Coloe, P. J. (1998), Survival and growth of Campylobacter jejuni after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. J. Food Prot. 61, 1609–1614.
- Levin, R. E. (2007), Campylobacter jejuni: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. Food Biotechnol. 21, 271–347.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lindblom, G. B., Sjogren, E., ve Kaijser, B. (1986), Natural *Campylobacter* colonization in chickens raised under different environmental conditions. *J. Hyg.* 96, 385–391.
- Lindstedt, B. A., Heir, E., Vardund, T., Melby, K. K., Kapperud, G. (2000), Comparative Fingerprinting Analysis of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* Strains by Amplified-Fragment Length Polymorphism Genotyping. *J. Clin. Microbol* 38:3379-3387.
- Luo, N. ve Zhang, Q. (2001), Molecular characterization of a cryptic plasmid from *Campylobacter jejuni*. *Plasmid.* 45: 127-33.
- Luo, N., Zhang, Q. (2001), Molecular characterization of a cryptic plasmid from *Campylobacter jejuni*, Department of Veterinary Preventive Medicine, Food Animal Health Research Program, Wooster, Ohio 44691, *Plasmid.* 2001 Mar;45(2):127-33., USA.
- Mäesaar, M., Kramarenko, T., Meremäe, K., Sögel, J., Lillenberg, M., Häkkinen, L., Ivanova, M., Kovalenko, K., Hörman, A., Hänninen, M. L., Roasto, M. (2016), Antimicrobial resistance profiles of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chicken meat of Estonian, Latvian and Lithuanian origin at Estonian retail level and from patients with severe enteric infections in Estonia. *Zoonoses and Public Health* 63, 89-96.
- Martínez, I., Mateo, E., Churrua, E., Girbau, C., Alonso, R., Fernández-Astorga A. (2006), Detection of *CdtA*, *CdtB*, and *CdtC* genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PZR., *Int J Med Microbiol.* 296(1):45-8.
- McMeekin, T. A., Thomas, C. J., ve Pennington, P. I. (1984), Contamination and decontamination of poultry carcass neck tissue. *J. Food Safety* 6, 79–88.
- Meinersmann, R. J., Helsel, L. O., Fields, P. I., Hiett, K. L. (1997), Discrimination of *Campylobacter jejuni* isolates by fla gene sequencing. *J. Clin. Microbiol.* 35:2810–2814.
- Meldrum, R. J., Tucker, D., Smith, R. M. M., Edwards, C. (2005), Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *Journal of Food Protection* 68, 1447- 1449.
- Mena, C., Rodrigues, D., Silva, J., Gibbs, P., Teixeira, P. (2008), Occurrence, Identification and Characterization of *Campylobacter* Species Isolated from Portuguese Poultry Samples Collected from Retail Establishments. *Poult Sci.* 87:187–190.
- Minnar, M. H., Doğruer, Y. (2006), Konya'da marketlerde satışa sunulan broiler karkaslarında termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı ve dağılımının araştırılması, *Vct. Bil. Derg.* (2006), 22,3-4: 85-90.
- Moore, J. E., Corcoran, D., Dooley, J. R. G., Fanning, S., Lucey, B., Matsuda, M., McDowell, D. A., Mégraud, F., Millar, B. C., O'Mahony, R., O'Riordan, L., O'Rourke, M., Rao, J. R., Rooney, J., Sails, A., ve Whyte, P. (2005), *Campylobacter* – Article review. *Vet. Res.* 36, 351–382.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Moore, J. E., Wilson, T. S., Wareing, D. R. A., Humphrey, T. J., Murphy, P. G. (2002), Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in ready to eat foods and raw poultry in Northern Ireland. *Journal of Food Protection* 65, 1326-1328.

Moran, A. P., Upton, M. E. (1987), Factors affecting production of coccoid forms by *Campylobacter jejuni* on solid media during incubation, *Journal of Applied Microbiology*, C. 62, S.6, s.527-537.

Nadeau, E., Messier, S., ve Quessy, S. (2002), Prevalence and comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry and sporadic cases of *Campylobacteriosis* in humans. *J. Food Prot.* 65, 73-78.

Nesbakken, T., Eckner, K., Hoidal, H. K., ve Rotterud, O. (2003), Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering and dressing procedures. *Int. J. Food Microbiol.* 80, 231-240.

Newell, D. G., ve Wagenaar, J. A. (2000), "Poultry infections and their control at the farm level," in *Campylobacter*, 2nd Edn, eds I. Nachamkin and M. J. Blaser (Washington, DC: American Society of Microbiology Press), 497-510.

Nygard, K., Andersson, Y., Rottingen, J. A., Svensson, A., Lindback, J., Kistemann, T., ve Giesecke, J. (2004), Association between environmental risk factors and *Campylobacter* infections in Sweden. *Epidemiol. Infect.* 132, 317-325.

Omer, C. (2009), Hindi etlerinde *Campylobacter jejuni*'nin kültür tekniği ve PZR ile saptanması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

On, S. L. W., Nielsen, E. M., Engberg, J., Madsen, M. (1998), Validity of *SmaI*-defined genotypes of *Campylobacter jejuni* examined by *SalI*, *KpnI*, and *BamHI* polymorphisms: evidence of identical clones infecting humans, poultry, and cattle. *S. Epidemiol. Infect.* 120:231-237.

Ono, K., Kurazono, T., Niwa, H., Itoh, K. (2003), Comparison of Three Methods for Epidemiological Typing of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Current Microbiology* 47:364-371.

Ono, K., Kurazono, T., Niwa, H., Itoh, K., (2003), Comparison of Three Methods for Epidemiological Typing of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Current Microbiology*; 47:364-371 149.

Orr, K. E., Lighfoot, N. F., Sisson, P. R., Harkis, B. A., Tveddle, J. L., Boyd, P., Carroll, A., Jackson, C. J., Wareing, D. R. A., ve Freeman, R. (1995), Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. *Epidemiol. Infect.* 114,15-24.

Osmanağaoğlu, A., Kıran, Ö., F., Oral, B. (2010), Laktik asit bakterilerinin 16S rDNA sekans analizi ile tanımlanması, Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu, Ankara Üniversitesi, Ankara, 28 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pamuk, S., (2006), Afyon'da paketlenmeden satılan piliç karkaslarında termofilik *Campylobacter* türlerinin saptanması ve *C. jejuni* izolatlarının PZR ile doğrulanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Park, S. F. (2002), The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 177–188.
- Pearson, A. D., Greenwood, M. H., Feltham, R. K., Healing, T. D., Donaldson, J., Jones, D. M., ve Colwell, R. R. (1996), Microbial ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom chicken supply chain: Intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4614–4620.
- Pesci, E. C., Daniel, L. C., Pickett, C. L. (1994), Genetic, enzymatic and pathogenic studies of the iron superoxide dismutase of *Campylobacter jejuni*. *Infec Immun*, 1994; 62: 2687-94.
- Polat E. (2008), Akut ishallerde *Campylobacter jejuni* ve diğer etyolojik ajanların hızlı tanısında moleküler yöntemlerin değeri, M. S. thesis, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
- Porter, I. A., ve Reid, T. M. S. (1980), A milk-borne outbreak of *Campylobacter* infection. *J. Hyg. (Lond.)* 84,415–419.
- Potter, M. E., Blaser, M. J., Sikes, R. K., Kaufmann, A. F., ve Wells, J. G. (1983), Human *Campylobacter* infection associated with certified raw milk. *Am. J. Epidemiol.* 117, 475– 483.
- Pratt, A., Korolik, V. (2005), Tetracycline resistance of Australian *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates. *J Antimicro Chemo*, 2005; 55: 452-60.
- Prencipe, V., Parisciani, G., Calistri, P., Caporale, C. M., Iannitto, G., Morelli, D., Pomilio, F., Prochowski, D., Migliorati, G. (2007), Thermotolerant *Campylobacter* in poultry meat marketed in the Abruzzo and Molise regions of Italy: prevalence and contaminations levels. *Vet. Ital.* 2007; 43:157–165.
- Robinson, D. A., Edgar, W. M., Gibson, G. L., Matchett, A. A., ve Robertson, L. (1979), *Campylobacter* enteritis associated with consumption of unpasteurised milk. *Br. Med. J.* 1, 1171-1173.
- Rodrigo, S., Adesiyun, A., Asgarali, Z., Swanston, W., (2005), Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. *Food Microbiology* 22, 125-131.
- Rollins, D. M., Colwell, R. R. (1986), Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment, *Appl Environ Microbiol.* 52(3): 531–538.
- Rozynek E., Dzierzanowska-Fangrat K., Korsak D., Konieczny P., Wardak S., Szych J., Jarosz M., Dzierzanowska D. (2008), Comparison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from humans and chicken carcasses in Poland. *J Food Prot* 71, 602-607.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Rozynek, E., Antos-Bielska, M., Dzierzanowska-Fangrat, K., Szczepańska, B., Trafny, E. A. (2010), Genetic similarity of *Campylobacter* isolates in humans, food, and water sources in central Poland., *Foodborne Pathog Dis.* 7(5):597-600.

Rozynek, E., Dzierzanowska-Frangat, K., Jozwiak, P., Popowski, J., Korsak, D., Dzierzanowska, D. (2005), Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *J. Med. Microbiol.* 54:615–619.

Saeed, A. M., Harris, N. V., ve DiGiA- como, R. F. (1993), The role of exposure to animals in the eti- ology of *Campylobacter jejuni/coli* enteritis. *Am. J. Epidemiol.* 137, 108–114.

Said, B., Wright, F., Nichols, G. L., Reacher, M., ve Rutter, M. (2003), Outbreaks of infectious disease associated with private drinking water supplies in England and Wales 1970–2000. *Epidemiol. Infect.* 130,469–479.

Samosornsuk, W., Asakura, M., Yoshida, E., Taguchi, T., Nishimura, K., Eampokalap, B., Phongsisay, V., Chaicumpa, W., Yamasaki, S. (2007), Evaluation of a Cytolethal Distending Toxin (*Cdt*) gene-based sapecies-specific Multiplex-PZR assay for the identification of *Campylobacter* strains isolated from poultry in Thailand. *Microbiol Immunol* 51:909-917.

Sandberg, M., Nygård, K., Meldal, H., Valle, P. S., Kruse, H., ve Skjerve, E. (2006), Incidence trend and risk factors for *Campylobacter* infections in humans in Norway. *BMC Public Health* 6, 179. doi: 10.1186/1471- 2458-6-179.

Scherer, K., Bartelta, E., Sommerfelda, C., ve Hildebrandt, G. (2006), Comparison of different sampling techniques and enumeration methods for the isolation and quantifi- cation of *Campylobacter* spp. in raw retail chickenlegs. *Int. J. Food Microbiol.* 108,115–119.

Schorr, D., Schmid, H., Rieder, H. L., Baumgartner, A., Vorkauf, H., ve Burnens, A. (1994), Risk factors for *Campylobacter* enteritis in Switzerland. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.* 196, 327–337.

Schouls, L. M., Reulen, S., Duim, B., Wagenaar J. A., Willems R. J., Dingle K. E., Colles F. M., Van Embden J. D. (2003), Comparative Genotyping of *Campylobacter jejuni* by Amplified Fragment Length Polymorphism, Multilocus Sequence Typing, and Short Repeat Sequencing: Strain Diversity, Host Range, and Recombination. *J. Clin. Microbol;* 1:15–26-148.

Sembald, M., Veron, M. (1963), Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)*, 105:897-910.

Simmons, N. A., ve Gibbs, F. J. (1979), *Campylobacter* spp. in oven ready poultry. *J. Infect.* 1, 159–162.

Skirrow, M. B. (1998), “*Campylobacteriosis*,” in *Zoonoses*, eds S. R. Palmer, S. R. Lord Soulsby, D. I. H. Simp- son (New York: Oxford University Press), 37–46.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Skirrow, M. B., Benjamin, J. (1980), Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter*. J. Clin Pathol. 1980 Nov; 33(11):1122–1122.
- Smibert, R. M. (1978), The Genus *Campylobacter*. Ann Rev Microbiol, 1978; 32: 673-709.
- Stern, N. J. (1992), Reservoirs for *Campylobacter jejuni* and approaches for intervention in poultry. in *Campylobacter jejuni: Current Status and Future Trends*. I. Nachamkin, M. J. Blaser ve L. Tompkins, ed. American Society for Microbiology, Washington, DC, s.49–60.
- Stern, N. J., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Kovalev, Y. N., Volodina, L. I., Perelygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., ve Levchuk, V. P. (2005). Paenibacillus polymyxa purified bacteriocin to control *Campylobacter jejuni* in chickens. J. Food Prot. 68, 1450–1453.
- Stern, N. J., ve Kazmi, S. U. (1989), “*Campylobacter jejuni*,” in *Foodborne Bacterial Pathogens*, ed. M. P. Doyle (New York: Marcel Dekker Inc.), 71–110.
- Stern, N. J., ve Kotula, A. W. (1982), Survival of *Campylobacter jejuni* inoculated into ground beef. Appl. Environ. Microbiol. 44, 1150–1153.
- Studahl, A., ve Andersson, Y. (2000), Risk factors for indigenous *Campylobacter* infection: a Swedish case control study. Epidemiol. Infect. 125, 269–275.
- Talukder, K. A., Aslam, M., Islam, Z., Azmi, I. J., Dutta, D. K., Hossain, S., Nur-E-Kamal, A., Nair, G. B., Cravioto, A., Sack, D. A., Endtz, H. P. (2008), Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. J. Clin Microbiol. 2008; 46:1485–1488.
- Tauxe, R. V. (1992), “Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infection in the United States and other industrialized nations,” Chapter 2, in: *Campylobacter jejuni: Current Status and Future Trends*, eds I. Nachamkin, M. J. Blaser, and L. S. Tompkins (Washington, DC: American Association of Microbiologists), 9– 19.
- Tauxe, R., Kruse, H., Hedberg, C., Potter, M., Madden, J., Wachsmuth, K. (1997), Microbial hazards and emerging issues associated with produce: a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiologic Criteria for Foods. J. Food Prot. 60, 1400– 1408.
- Tran, T. T. (1998), A blood free enrichment medium for growing *Campylobacter* spp. under aerobic conditions. Lett. Appl. Microbiol. 26, 145–148.
- Van de Giessen, A., Mazurier, S. I., Jacobs - Reitsma, W., Jansen, W., Berkers, P., Ritmeester, W., ve Wernars, K. (1992), Study on the epidemiology and control of *Campylobacter jejuni* in poultry broiler flocks. Appl. Environ. Microbiol. 58, 1913–1917.
- Vandamme, P. (2000), “Taxonomy of the family *Campylobacteraceae*,” in *Campylobacter*, eds I. Namchamkin and M. J. Blaser (Washington, DC: ASM), 3–27.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vandamme, P. ve Goossens, H. (1992), Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter*: a review. *Zentralblatt für Bakteriologie* 276, 447±472.
- Vandamme, P., Debruyne, L., De Brandt, E., ve Falsen, E. (2010), Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 2016–2022.
- Vandamme, P.¹, Falsen, E., Rossau, R., Hoste, B., Segers, P., Tytgat, R., De Ley, J., (1991), Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov., *Int J. Syst Bacteriol.* 1991 Jan; 41(1):88-103.
- Veron, M. ve Chatelain, R. (1973), Taxonomic Study of the Genus *Campylobacter* Sebald and Veron and Designation of the Neotype Strain for the Type Species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Veron, *International Association of Microbiological Societies*, s.122-134.
- Wassenaar T, Newell D. (2000), Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol.* 66:1-9
- White, P. L., Baker, A. R., ve James, W. O. (1997), Strategies to control *Salmonella* and *Campylobacter* in raw poultry products. *Rev. Sci. Tech.* 16, 525–541.
- WHO. (2005), WHO global Salm-Surv Strategic Plan 2006–2010. Available at: http://www.who.int/gfn/general/documents/GSS_STRATEGICPLAN_2006_10.pdf , s. 143.
- Wilke Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay, M. (2002), İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel Matbacılık, 2. Baskı; 1638-1643.
- William, A. D., Jaime, L. S., Todd, M. P., Lynn, A. J. (2001), Role of catalase in *Campylobacter jejuni* intracellular survival. *Infec Immun*, 2001; 65: 6337-45.
- Wills, W. L., ve Murray, C. (1997), *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poult. Sci.* 76,314–317.
- Wilma, C. H., Jeroen, A. W., Frank, M. R., Tjakko, A. (1998), Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Appl Environ Microbiol*, 1998; 64: 3917-22.
- Wilson, I. G., ve Moore, J. E. (1996), Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish. *Epidemol. Infect.* 116, 147–153.
- Yıldırım, G. (1995), İstanbul ve yöresinde satışa sunulan hazır tavuk etleri ve ürünlerinde *Campylobacter jejuni* saptanması üzerine izolasyon ve identifikasyon çalışmaları. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zanetti, F., Varoli, O., Stampi, S., ve DeLuca, G. (1996), Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.* 33, 315–321.

Zweifel, M. A. Z., ve Stephan, R. (2004), Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 92,45–53.

