

TÜRK YE CUMHUR YET
ANKARA ÜN VERS TES
SAGLIK B L MLER ENST TUSÜ
**P L Ç KARKASLARINA A T BOYUN DER LER NDE
TERMOF L K CAMPYLOBACTER TÜRLER N N
VARLIGI VE C. JEJUNI'N N
PCR TEKN G LE SAPTANMASI**
Ahmet KOLUMAN
BES N H JYEN VE TEKNOLOJ S ANAB L M DALI
DOKTORA TEZ
DANISMAN
Doç. Dr. Haydar ÖZDEM R
ANKARA-2006

İÇİNDEKİLER

çindekiler.....	i
Önsöz.....	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Sekiller	vi
Çizelgeler	vii
1. G R S.....	1
1.1. Tarihçe.....	2
1.2. <i>Campylobacter</i> 'lerin taksonomisi.....	3
1.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin morfolojik ve kültüre edilebilme özellikleri	4
1.3.1. Bakteri morfolojisi	4
1.3.2. Koloni morfolojisi.....	4
1.3.3. Fizyolojik ve kültüre edilebilme özellikleri.....	6
1.3.4. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri.....	6
1.4. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin çeşitli faktörlere fizyolojik cevapları.....	6
1.4.1. Sıcaklık değişimi.....	7
1.4.2. Durgunluk fazı	8
1.4.3. Oksidatif stres	9
1.4.4. Ozmotik stres	9
1.4.5. Quorum Sensing.....	9
1.4.6. Canlı fakat kültüre edilemeyen form (Viable but non culturable-VBNC).....	10
1.5. <i>C. jejuni</i> 'nin tutunma özellikleri ve biyofilmlerde bulunusu	10
1.6. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin antibiyotik direnci.....	11
1.7. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin izolasyon ve identifikasyonu.....	13
1.7.1. Klasik kültür teknikleri.....	13
1.7.2. Hızlı identifikasyon metotları	16
1.7.2.1. İmmunolojik tespit metotları	16
1.7.2.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)	16
1.8. <i>C. jejuni</i> 'den kaynaklanan infeksiyonların patogenezi	19

1.9. <i>C. jejuni</i> 'den kaynaklanan gıda infeksiyonlarının semptomları	21
1.9.1. Enterik semptomlar	22
1.9.2. Ekstra enterik semptomlar	22
ii	
1.10. <i>Campylobacter</i> türlerinin gıdalarda bulunusu	24
1.10.1. Kanatlı eti ve ürünleri.....	24
1.10.2. Kırmızı et ve ürünleri	27
1.10.3. Süt ve süt ürünleri	28
1.10.4. Sularda bulunusu.....	29
1.11. Çiftlikten masaya piliç etlerinin <i>C. jejuni</i> ile kontaminasyon kaynakları	29
1.11.1. Yetistirme aşamasında kontaminasyon	30
1.11.1.1. Vertikal bulasma	30
1.11.1.2. Horizontal bulasma.....	31
1.11.1.2.1. Yem ve altlık.....	31
1.11.1.2.2. İçme suyu ve suluklar	31
1.11.1.2.3. Kümes koşulları ve çalışanlara bağlı kontaminasyon	32
1.11.2. Kesimhanelerde meydana gelen kontaminasyon	33
1.11.3. İşleri işleme aşamasında kontaminasyon	35
1.12. <i>Campylobacter</i> infeksiyonlarının epidemiyolojisi.....	37
1.13. Korunma ve Kontrol	41
2. GEREÇ VE YÖNTEM	43
2.1. Gereç	43
2.1.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasallar	44
2.2. Yöntem.....	49
2.2.1. Boyun Derisi ve Dışkı Örneklerinin Alınması	49
2.2.2. Yem ve Su Örneklerinin Alınması.....	49
2.2.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	49
2.2.3.1. Zenginleştirme İşlemi.....	50
2.2.3.2. Kolonilerin İzolasyonu	50
2.2.3.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu	51
2.2.3.3.1. Gram Boyama	51
2.2.3.3.2. Katalaz Testi	52
2.2.3.3.3. Oksidaz Testi.....	52
2.2.3.3.4. Hareketlilik Testi.....	53
2.2.3.3.5. Hippurat Hidroliz Testi.....	53
2.2.3.3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	53
2.2.3.3.7. Karbonhidrat Fermentasyon Testleri, H ₂ S Oluşumu ve 25°C'de Üreme.....	54
2.2.3.4. <i>C.jejuni</i> Suslarının Dondurulması.....	55
2.2.3.5. <i>C.jejuni</i> Suslarının Çözdürülmesi	55
2.2.3.6. PCR Tekniği ile <i>C.jejuni</i> Suslarının Doğrulanması	55
2.2.3.6.1. PCR Tekniği.....	56
2.3. İstatistiksel Analizler.....	56
3. BULGULAR	57
iii	
3.1. Klasik kültür tekniği ile örneklerde termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin ve <i>C. jejuni</i> 'nin bulunusu.....	57
3.2. İdentifikasyon sonuçları.....	63
3.3. PCR sonuçları.....	64

4. TARTISMA.....	65
5. SONUÇ VE ÖNER_LER	77
6. ÖZET.....	78
7. SUMMARY.....	79
8. KAYNAKLAR	80
9. ÖZGEÇM_S.....	97

iv

ÖNSÖZ

Yirminci yüzyılın son yarısında, çabuk pisen ve çok çeşidi bulunan piliç eti ve ürünlerinin tüketimi artmıştır. Piliç eti, düşük kolestrol ve kalori düzeyinin yanı sıra seçkin esansiyel amino asit içeriğiyle tüm dünya mutfaklarında yaygın tüketim alanı bulmuştur. Piliç eti tüketiminin tetiklediği seri üretimde meydana gelen artışa bağlı olarak piliç eti kaynaklı zoonozların yayılımı ve bunlardan kaynaklanan gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarında da bir artış meydana gelmiştir. Piliç eti tüketimine bağlı olarak campylobacteriosis ve salmonellosis en yaygın görülen enfeksiyonlardır. Campylobacteriosis için en önemli kaynak kabul edilen piliç etinin, *C. jejuni* ile kontaminasyonu yetistirme aşamasından başlamakta ve kesim işlemlerine bağlı olarak yüksek düzeylere ulaşmaktadır. *C. jejuni*, sadece intestinal değil meydana getirdiği ekstraintestinal semptomlar yönünden de büyük önem teşkil etmektedir.

Bu çalışmada, çiftlikte potansiyel bulaşma kaynağı olan yem ve su örneklerinin yanı sıra kesimhanelerden alınan boyun derisi ve bağırsak içeriklerinde *C. jejuni*'nin tespiti klasik kültür metodu ile yapılırken *C. jejuni* izolatları PCR metodu ile doğrulanmıştır.

Bu çalışmanın ve doktora eğitimimin her aşamasında desteğini hissettiğim danışmanım Doç. Dr. Haydar ÖZDEM_R'e, tezime çok büyük maddi kaynak sunarak gerçekleşmesinde en büyük faktör olan Sayın Mahmut TATLİDEDE ve ailesine, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İrfan EROL ve Anabilim Dalı öğretim üyelerine eğitimim ve tezimde gösterdikleri yardımdan dolayı teşekkür ederim. Aras. Gör. Sebnem PAMUK, Vet. Hek. Mustafa SAVASÇI, Vet. Hek. Özlem_SER_, Aras. Gör. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU ve Aras. Gör. Ali GÜCÜKOĞLU, Sema BAL ve tüm ihtiyaçlarımı hızlı biçimde sağlayan Özgür EM_C_ ile uzmanlık, doktora öğrencisi ve asistan arkadaşlarım ve örnek almamda yardımcı olan meslektaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Mim. A. Özgen YASAR ve Vet. Hek. Menekşe M. ÖZB_LG_ dışarıdan desteklerinizle ayakta tuttunuz beni. Dostlarım, Vet. Hek. Selin ÇEB_ ve Vet. Hek. Çagatay ÇEB_ zor anlarımda hep yanımdaydınız, varlığınız hep en büyük yardımcım oldu.

Hayatım boyunca her zaman desteğini hissettiğim ailem; Afife-Aziz KOLUMAN, Nalan-Lütfi-Yigit BUYRUK, Nazan-Mustafa-Tuna DARCAN, bu tez sizin için yapmak istediğim tüm güzel şeyler için bir başlangıç. Sizin sevginiz, ilginiz, emeginiz, desteğiniz, sükunetiniz ve en önemlisi varlığınız olmasa tek kelimesini yazamazdım bu çalışmanın. Sevgili ailem, bu tezi benimle birlikte verdiğiniz emekten ve gerçek üstü sabırlarınızdan dolayı sizlere adıyorum.

v

S_MGELER ve KISALTMALAR

DNA : Deoksiribonükleik asit

FDA : Food and Drug Administration- Gıda ve İlaç Dairesi

GBS : Guillain Barré Sendromu
GMP : Good Manufacturing Practices- _yi Üretim Uygulamaları
HACCP : Hazard Analysis Critical Control Points- Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri
HUS : Hemorajik Üremik Sendrom
ICMSF : International Commission on Microbial Specifications of Foods
IMS : Immuno magnetic seperation
ISO : The International Organization for Standardization- Uluslar arası Standardizasyon Ofisi
LPS : Lipopolisakkarit
PCR : Polymerase Chain Reaction
RNA : Ribonükleik asit
rRNA : Ribozomal Ribonükleik asit
 σ : Sigma
UV : Ultraviyole
VBNC : Viable but nonculturable-Canlı fakat kültüre edilemeyen form

SEK_ LLER

Sayfa

Sekil 1.1. PCR döngüsü ve her döngü sonucu elde edilen gen miktarı. 18

Sekil 1.2. *C. jejuni* 'nin konakçının bağırsak epitel hücreleri ile etkilesimi. 21

Sekil 1.3. Nöron yüzeyinde ve *C. jejuni* lipopolisakkaritlerinde (LPS) ortak antijenik yüzey.

23

Sekil 1.4. Kümes koşullarında *Campylobacter* türleri ile kontaminasyon kaynakları.

30

Sekil 1.5. Kesimhanelerde kesim, marketlerde satış ve evlerde hazırlama aşamalarında meydana gelen *Campylobacter* kontaminasyon kaynakları.

34

Sekil 1.6. Piliç eti hazırlama aşamasındaki kontaminasyon kaynakları. 36

Sekil 1.7. *C. jejuni*'nin çiftlik hayvanları ve insanlara bulaşma kaynakları. 37

Sekil 1.8. Campylobacteriosis'in yaş ve cinsiyete göre insidansı. 38

Sekil 2.1. Charcoal Cephaperazone Deoxycholate agar'da termofilik *Campylobacter* kolonilerinin makroskopik görüntüsü.

50

Sekil 2.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyon akış seması

51

Sekil 2.3. Gram boyamada termofilik *Campylobacter* türlerinin mikroskopik görüntüsü.

52

Sekil 2.4. Termofilik *Campylobacter* türlerinin oksidaz test sonucu. 52

Sekil 2.5. Hippurat hidrolizi testi. 53

Sekil 2.6. Müller Hinton Agar'da antibiyotik duyarlılık testi 54

Sekil 2.7. Triple Sugar Iron Agar'da karbonhidrat fermentasyon ve H₂S oluşumu testi. Ekim öncesi görünüm (a), ekim sonrası görünüm

(b).

54

Sekil 3.1. Örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

58

Sekil 3.2. A ve B işletmesinden alınan örneklerde, termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu

59

Sekil 3.3. _ki farklı işletmeye göre, *C. jejuni* bulunus yüzdeleri. 60

Sekil 3.4. sıcak aylarda ve soğuk aylarda alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

61

Sekil 3.5. _sletmelere ve örnekleme zamanına bağlı olarak alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni* bulunusu.

62

Sekil 3.6. Sıcak ve soğuk aylara göre örneklerde *C. jejuni* bulunus yüzdesi.

63

Sekil 3.7. Tüm örneklerden izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımı.

63

Sekil 3.8. PCR amplifikasyon ürünlerinin elektroforez işlemi takiben transilüminatörde görünümü.

64

vii

Ç_ZELGELER

Sayfa

Çizelge 1.1 Piliç eti tüketiminin, 1995-2003 yılları arasında dünya, Avrupa Birliği Ülkeleri ve Türkiye'de dağılımı (metrik ton).

1

Çizelge 1.2. *Campylobacteraceae* üyelerinin biyokimyasal testlere göre sınıflandırılması.

5

Çizelge 1.3. Çeşitli olumsuz koşullara karşı *C. jejuni*, *E.coli* ve *B.subtilis* tarafından yapılan genetik düzenlemeler.

7

Çizelge 1.4. _nsan ve piliçlerden izole elde edilen florokinolon dirençli *Campylobacter* türleriyle ilgili çalışmalar.

12

Çizelge 1.5. *C. jejuni* izolasyonunda kullanılan bazı antibiyotikler ve inhibitörük etkileri.

13

Çizelge 1.6. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için kullanılan ön zenginleştirme brotları ve içerikleri.

14

Çizelge 1.7. *C. jejuni* ve *C. coli*'nin farklı sürelerde inkübe edilen ve farklı brotlarda yapılan ön zenginleştirme işlemine göre izolasyon oranları.

15

Çizelge 1.8. *C. jejuni*'nin virülens faktörleri. 20

Çizelge 1.9. Kesim prosesinin ileri işleme aşamasında, çeşitli yüzeylerin örnekleme zamanına bağlı olarak, *C. jejuni* ile kontaminasyonu.

36

Çizelge 1.10. 1980-1990 yılları arasında bildirilen, *C. jejuni*'nin sebep olduğu bazı salgınlar.

39

Çizelge 1.11. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1985-2002 arasında, *C. jejuni*'ye bağlı bildirilen salgınlar.

40

Çizelge 2.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılan testler.

55

Çizelge 3.1. Örneklerde termofilik *Campylobacter* spp. ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

58

Çizelge 3.2. A ve B işletmesinden alınan örneklerde, termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

59

Çizelge 3.3. Sıcak aylarda ve soğuk aylarda alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

61

1

1. G _ R _ S

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından sonra gündeme gelen dengeli beslenme bilinci, insanların yaşam biçimleri ile birlikte gıda tüketimlerinde de köklü değişimlere neden olmuştur (Mela, 1999). Bu bağlamda Türkiye'de, diğer ülkelerde olduğu gibi beyaz et üretiminde ve kanatlı yetiştiriciliği ve kanatlı eti üretim sektörlerinde çok hızlı bir büyüme meydana gelmiştir. Dünya'da, Avrupa Birliği'nde ve Türkiye'de 1995-2003 yıllarında piliç eti tüketimi çizelge 1.1'de verilmiştir (Anon, 2004a; Anon, 2004b; Anon, 2004c).

Türk kanatlı sektörünün, 1990'lı yılların başında gerçekleştirilen büyük yatırımlar sonucu, gelişmeye başladığı ve dünya standartlarında üretim potansiyeline yaklaştığı bildirilmiştir (Anon., 2004a, Anon., 2004b). Belirli dönemlerde piyasalarda oluşan olumsuzlukların, beyaz et sektörüne de yansıtıldığı ancak üretimin bu durumdan fazla etkilenmeden büyümeye devam ettiği ve maksimum kapasiteye ulaştığı kaydedilmiştir (Anon., 2004b; Anon., 2004c).

Çizelge 1.1 Piliç eti tüketiminin, 1995-2003 yılları arasında dünya, Avrupa Birliği Ülkeleri ve Türkiye'de dağılımı (metrik ton) (Anon, 2004a; Anon, 2004b; Anon, 2004c).

Yıllar Dünya Avrupa Birliği Türkiye

1995 46.492.359 4.650.000 282.064

1996 47.847.030 4.850.000 420.482

1997 50.808.750 4.950.000 471.415

1998 53.027.836 5.318.000 486.682

1999 55.634.951 5.420.000 596.854

2000 58.991.683 5.650.000 643.436

2001 61.228.725 5.780.000 614.726

2002 63.666.369 5.830.000 696.160

2003 65.014.504 5.850.000 Veri yok

Ancak, piliç eti tüketimindeki artışa bağlı olarak gıda infeksiyon ve intoksikasyonlarında da belirgin bir artış olduğu ve özellikle piliç eti tüketiminden kaynaklanan gıda infeksiyonlarında *Campylobacter jejuni*'nin birinci derecede rol oynadığı (Anon., 2002a, Anon, 2002c; Anon, 2003b) termofilik *Campylobacter* türlerinden kaynaklanan gıda infeksiyonları sonucu insanlarda görülen, gastroenterit ve Guillain Barré Sendromu gibi komplikasyonların, hem is gücü kaybına hem de tedavi masraflarının oldukça yüksek olması sebebiyle, önemli derecede ekonomik

2

kayıplara neden olduğunda bildirilmektedir (Anon., 1999; Yuki ve ark., 1990; Yuki, 2001).

Kanatlı kesim prosesi sırasında, bağırsaktan deriye bulaşan *C. jejuni*'nin, mikroaerofilik özellik gösteren tüy foliküllerine yerleştiği bildirilmiştir (Frank, 2001). Bu özelliğinden dolayı, *C. jejuni*'nin varlığına ait çalışmalarda piliç boyun derileri, hem foliküler yapılarından hem de kesim prosesi gereği kontaminasyon en fazla olduğu için tercih edilmektedir. Bulaşma kaynaklarının birçok araştırmacı (Stern ve Kazmi, 1989; Yuki ve ark., 1990; Newell ve Nachamkin, 1992; Ketley, 1997; Gilbert ve ark., 2000; McDonald ve Gruslin, 2001; Newell ve Fearnley, 2003; Butzler, 2004) tarafından ortaya konulması, hem halk sağlığı hemde çiftlikten masaya gıda güvenliği yönünden önem taşımaktadır. Kanatlı kesim prosesi sırasında, bağırsaktan deriye bulaşan *C. jejuni*'nin, mikroaerofilik özellik gösteren tüy foliküllerine yerleştiği bildirilmiştir (Frank, 2001).

1.1. Tarihçe

Campylobacter türleri, ilk kez 1886 yılında Theodor Escherich tarafından “chlorea infantum” sonucu hayatını kaybeden çocuklarda tanımlanmıştır (Butzler, 2004). *C. jejuni*, McFadyean ve Stockman tarafından abort yapmış koyun fötüslerinde *Vibrio* benzeri bakteriler olarak tanımlanmıştır. Smith (1919) sığırlarda aborta neden olan bakteriyi, mikroskopta spiral şekilde görünmesinden dolayı, *Spirillum* olarak tanımlamıştır. Smith ve Taylor (1919) çalışma sonuçlarını McFadyean ve Stockman'ın (1913) sonuçları ile kıyaslayarak, her iki bakterinin de aynı olduğu kanısına varıp, bakteriyi *Vibrio fetus* olarak isimlendirmişlerdir (Butzler, 2004). Jones ve ark. (1931) buzağı kısı dizanterisi etkenini *Vibrio jejuni* olarak adlandırmışlar ve daha sonra, Doyle (1944) domuz dizanterisi etkeninin de *Vibrio jejuni* olduğunu bildirmiştir (Butzler, 2004). Aynı şekilde, Amerika Birleşik Devletleri'nin Illinois eyaletine bağlı 2 farklı cezaevinde, Mayıs 1938'de çiğ süt tüketimine bağlı olarak toplam 335 kaside diyare ve karın krampları ile seyreden bir

3

salgının meydana geldiği, sorumlu etkenin ise *Vibrio jejuni* olduğu kaydedilmiştir (Stern ve Kazmi, 1989).

Sebald ve Veron (1963), düşük DNA baz konsantrasyonlarına sahip olmaları, mikroaerofilik olmaları ve nonfermentatif yapılarına dayanarak *Vibrio fetus* ve *Vibrio bubulus*'u, *Campylobacter* olarak yeni bir cins adı altında adlandırmışlardır. Butzler ve ark. (1974), kıvrımlı çubuk bakteri anlamına gelen “*Campylobacter*” kelimesi ile tanımlanan bu yeni cinse ait daha geniş bir açıklama yaparak sınıflandırmayı oluşturmuşlardır. Skirrow (1977) diskıdan *C. jejuni* ve *C. coli* izolasyonu için bir metot geliştirmiştir. Bunu takiben izolasyon oranında da belirgin bir artış

gözlemlenmeye başlamıştır. Butzler ve Skirrow (1979) campylobacteriosis'e ait ilk geniş raporu hazırlamış, bunu takiben Penner ve Hennessy (1980) ile Lior ve ark. (1982) sus tiplendirme amacıyla hala kullanılan serotiplendirme semalarını tanımlamışlardır. Yirminci yüzyılın son otuz yılında, *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonundaki metodolojik gelişmelere bağlı olarak, *Campylobacter* türlerinin global anlamda gıda kökenli gastroenteritlerin en sık rastlanılan nedeni olduğu ortaya konmuştur (Butzler, 2004).

1.2. *Campylobacter* türlerinin taksonomisi

Campylobacter türleri, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin sekizinci baskısında (Anon., 1974) *Spirillaceae* ailesinde yer almıştır. Romaniuk ve ark. (1987) 16S rRNA tiplendirmesine göre, *Campylobacter* türlerinin yeni bir aile olarak tanımlanması gerektiğini ve *Thiovulum* türlerinin de *Campylobacter* türleri ile yakın akrabalık gösterdiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Stackebrandt ve Goebel (1994) 16S rRNA'ya ilişkin çalışmalarında, *Wolinella succinogenes*'in de aynı filogenetik gruba ait olduğunu ortaya koymuşlardır. Thompson ve Bettelheim (1989) ise yaptıkları çalışmada, *Campylobacter* türlerinin üç büyük rRNA homolog gruba ayrıldığını saptamışlardır. Daha sonraları Van Damme ve De Ley (1991), *Campylobacteraceae* ailesindeki üçüncü homolog grupta yer alan *Campylobacter nitrofigilis* ve *Campylobacter cryaerophila*'nın *Arcobacter nitrofigilis* ve *Arcobacter cryaerophila* olarak isimlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bergey's Manual of

4
Determinative Bacteriology'nin 9. baskısında (Anon., 1994) *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Helicobacter* cinsleri *Campylobacteraceae* familyasında yer almıştır. *Campylobacter* cinsinde yer alan tür ve alt türler Çizelge 1.2.'de verilmiştir (Egen, 2000).

1.3. Termofilik *Campylobacter* türlerinin morfolojik ve kültüre edilebilme özellikleri

1.3.1. Bakteri morfolojisi

Termofilik *Campylobacter* türleri, Gram negatif, sporsuz, 0.2-0.9 µm genişliğinde, 0.5-5 µm uzunluğunda çubukçuk formunda bakterilerdir. Bunlar, mono ya da bipolar flagellaları sayesinde hareket yeteneğine sahip olup, mikroskopik bakıda spiral tek hücreler veya martı kanadı formunda görünürler (Nachamkin ve ark., 2002). Eski kültürlerden yapılan boyamalarda, bakterilerin "S" yada kokoid formda görüldükleri belirtilmiştir (Hazeleger ve ark., 1992). *Campylobacter* türlerinde, flagella uzunluğunun bakteri uzunluğunun 2 ya da 3 katı olduğu, buna bağlı olarak da belirgin bir hareket yeteneğine sahip oldukları bildirilmiştir. Bakteri sıvı ortamda karakteristik tirbüson benzeri "cork screw" hareketi yapmaktadır. Ayrıca flagellasız veya hareketsiz *Campylobacter* türleri de bildirilmiştir (Stern ve Kazmi, 1989; Lake ve ark., 2003).

1.3.2. Koloni morfolojisi

Termofilik *Campylobacter* türlerinin, nem oranı yüksek besiyerlerinde koloni morfolojilerinin 10 mm'ye kadar ulaşabilen çapta, basık, yaygın, kenarları düzgün olmayan ve gri renkte, nem oranı düşük besiyerlerinde 1-2 mm çapında konveks, parlak, kenarları düzgün, hafif opak merkezli oldukları saptanmıştır (Nachamkin ve ark., 2002). Yeni dökülmüş besiyerlerindeki yüksek nemden dolayı yayılma eğiliminde olan koloniler, hemoliz oluşturmazlar ve besiyerinde belirgin bir kokuya sahip degillerdir (Roop ve ark., 1984).

Çizelge 1.2. *Campylobacteraceae* üyelerinin biyokimyasal testlere göre sınıflandırılması. (Van Damme ve De Ley, 1991).

Gelisme sıcaklıkları Ortamda bulununca üreme Duyarlılık

***Campylobacteraceae* üyesinin adı**

Katalaz

Nitrat red.

Nitrit red.

H₂ ihtiyacı

Üreaz

H₂S üretimi

Hippurat Hidr.

_ndoksil Asetat

hidr

15°C

25°C

42°C

3.5 NaCl

%1 gliserin

%0.1TMA

O

(anaerob)

Nalidiksik

asit

Cephalotin

G-C içeriği

(% mol)

Campylobacter fetus subs. *fetus* +++-----+--- R S 33-35

Campylobacter fetus subs. *veneralis* +++-----+--- R S 33-34

Campylobacter hyointestinalis +- - V - +-----+--- R S 33-36

Campylobacter sputorum biovar *sputorum* - +-----+--- V S S 30-31

Campylobacter sputorum biovar *bubulus* - +-----+--- R S 29-30

Campylobacter sputorum biovar *fecalis* +++-+-----+--- R S 30-32

Campylobacter jejuni subs. *jejuni** +++-----+--- S R 30-33

Campylobacter jejuni subs. *doylei** V ----- v +-----+--- S S 30-31

*Campylobacter coli** +++-----+--- S R 30-33

*Campylobacter lari** +++- v -----+--- R R 30-32

*Campylobacter upsaliensis**

Termofilik *Campylobacter* spp.

Z +-----+--- v - S S 32-36

Campylobacter mucosalis - +-----+--- R S 36-38

Campylobacter concius - +-----+--- R R 37-41

Campylobacter curvus - +-----+--- ND S N

D

45-46

Campylobacter rectus - +-----+--- z - + ND S N

D

45-46

Arcobacter cryaerophilus +-----+--- v R 28-29

Arcobacter nitrofigilis +-----+ N

D

-- +-----+--- ND R S 28-29

6

1.3.3. Fizyolojik ve kültüre edilebilme özellikleri

Termofilik *Campylobacter* türleri; obligat mikroaerofilik bakteriler olup, üremelerinde % 10 CO₂, %5 O₂ ve % 85 N₂'a gereksinim duyarlar (Doyle ve Roman, 1982a). Optimum üreme sıcaklıkları 42-43°C arasında olup, 30°C'nin altında üremeyemezler (Stern ve Kazmi, 1989). Termofilik *Campylobacter* türleri, düşük a_wdeğerlerine ve kurumaya karşı oldukça duyarlı olup, 0.97'nin altındaki a_wdeğerlerinde canlılıklarını sürdürmezler (Fernandez ve ark., 1985). Benzer şekilde, % 2 tuz içeren besi yerlerinde de üreyemedikleri bildirilmiştir (Doyle ve Roman, 1982a). Termofilik *Campylobacter* türlerinin üreyebildikleri pH aralığı 4.9-9.0 olup, optimum pH aralığı ise 6.7-7.5'tir (Blasser ve ark., 1980). Termofilik *Campylobacter* türleri karbonhidratları okside ve fermente etmezler. Enerji

gereksinimlerini glutamin, glutamik asit, asparjin ve aspartik asit gibi aminoasitleri yıkımlamak suretiyle trikarboksilik asit siklusunun ara ürünlerinden sağlarlar. Buna ilaveten, *C. jejuni* ve *C. coli*'nin hidrojen ve fumaratı okside ederek de enerji sağladıkları bildirilmiştir (Roop ve ark.,1984).

1.3.4. Termofilik *Campylobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri

Termofilik *Campylobacter* türleri katalaz ve oksidaz pozitif, selenit ve nitratı indirgeyen mikroorganizmalardır. Jelatin ve üreyi hidrolize etmezler, indol, metil red, voges proskauer ve sitrat reaksiyonları negatiftir. Lipaz aktivitesine sahip olmadıkları, pigment üretmedikleri ve yüksek miktarda sitokrom b ve c'ye sahip oldukları bildirilmiştir. Termofilik *Campylobacter* türlerinden sadece *C. jejuni*'nin hippuratu hidrolize ettiği, *C. coli*'nin H₂S üretme yeteneğinin zayıf olduğu kaydedilmiştir. (Roop ve ark., 1984; Fields ve ark., 1986; Stern ve Kazmi, 1989; Egen, 2000). Çizelge 1.2.'de termofilik *Campylobacter* türlerinin bazı biyokimyasal özellikleri gösterilmiştir.

1.4. Termofilik *Campylobacter* türlerinin çeşitli faktörlere fizyolojik cevapları

Termofilik *Campylobacter* türlerinin olumsuz koşullarda genetik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerini düzenleyerek canlıklarını sürdürdükleri ortaya

7

konmuştur (Park, 2002). Çeşitli olumsuz koşullara karşı yapılan genetik düzenlemeler Çizelge 1.3.'de gösterilmiştir (Park, 2002).

Çizelge 1.3. Çeşitli olumsuz koşullara karşı *C. jejuni*, *E.coli* ve *B.subtilis* tarafından yapılan genetik düzenlemeler (Park, 2002).

Gen Görevi *C. jejuni* *E.coli* *B.subtilis*

Oksidatif stres

soxRS Süperoksit stresine cevabı sağlayan pozitif regülatör

- + -

oxyR Peroksit stresine cevabı sağlayan pozitif regülatör

- + -

perR Peroksit stresine cevabı sağlayan negatif regülatör

+ + +

sodB veya *sodF* Demir taşıyıcı sistemi destekli süperoksit dizmutaz

+ + +

sodA Mangan taşıyıcı sistemi destekli süperoksit dizmutaz

- + +

katA veya *katE* Katalaz + + +

katG Katalaz - + -

ahpC Alkil hidroperoksit redüktaz + + +

Osmoregülasyon

proP _lkel prolin, glisin betain atılım sistemi + + +

proU Gelismis osmoregülasyon sistemi - + +

otsAB Osmoregülatör trehaloz sentezi - + -

betAB Osmoregülatör kolin-betain sentezi - + +

Durgunluk fazı

crsA Karbon depo regülatörü + + +

rpoS Gram negatif genel stress sigma faktörü - + -

sigB Gram pozitif genel stress sigma faktörü - - +

Sıcaklık deşisimi

rpoH Sıcak soku cevap sistemi - + -

hspR Sıcak soku negatif regülatörü + - -

hrcA Sıcak soku negatif regülatörü + - -

dnaJ Sıcak soku proteinleri + + +

cspA Soguk soku proteinleri - + +

Quorum Sensing

luxI Homoserin lakton sentezi - - -

luxS Otoindüser 2 protein sentezi + + +

comQX Peptit prehormon sentezi - - +

phrC Hücre dışı sinyalizasyon proteinleri sentezi - - +

1.4.1. Sıcaklık değişimi

Termofilik *Campylobacter* türlerinin, 30°C'nin altında ve 47°C'nin üzerinde üreyemedikleri kaydedilmiştir. Termofilik olmalarına rağmen, geleneksel pişirme işlemleri ile pastörizasyon işlemlerine duyarlı oldukları bildirilmiştir (Hazeleger ve ark., 1992; Hazeleger ve ark., 1998).

8

Birçok bakteri tarafından düşük sıcaklıklarda üreme davranışlarını düzenlemek için sentezlenen soguk soku proteinlerinin (cold shock proteins) *C. jejuni* tarafından sentezlenemediği belirlenmiştir (Phadtare ve ark., 1999; Parkhill ve ark. 2000). Termofilik *Campylobacter* türlerinin 30°C'nin altında üreyemedikleri, 4°C'de canlılıklarını korudukları ve ATP sentezleyebildikleri kaydedilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, düşük sıcaklıklarda sentezlenen ATP'lerin ideal ortamlara göç için kullanılmak üzere sentezlendiği bildirilmiştir (Humprey ve Cruickshank, 1985; Hazeleger ve ark., 1992; Fernandez ve Pison, 1996).

Arsene ve ark. (2000) çalışmalarında, sıcaklık stresine maruz bıraktıkları çeşitli patojenlerin ATP-bağımlı proteaz ve sıcak soku proteinleri sentezlediklerini gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar, *C. jejuni*'nin diğer patojenlerden daha fazla sıcak soku proteini sentezlediği ve söz konusu 24 sıcak soku proteini sentezleyen *dnaJ* geninin, aşağıya düzenlenmesi ile 46°C'de ölmeye başladığı ve bu genden yoksun *C. jejuni*'nin piliç bağırsak epitelyum hücrelerine kolonize olamadığını bildirmişlerdir. *C. jejuni*'nin *Escherichia coli*'de bulunan σ faktörü ile *Bacillus subtilis*'in Sınıf II ve Sınıf III genlerinden yoksun olduğu, buna karşın üç ayrı gen tarafından düzenlenen sıcak soku tolerans mekanizması geliştirdiği bildirilmiştir. Bunlardan ilki, 37- 42°C arasında proteinlerin sentezinden sorumlu olan *racRS*, ikincisi *groESL* geni ve son olarak *dnaJ* geni olarak bildirilmiştir (Park, 2002).

1.4.2. Durgunluk fazı

Birçok bakterinin, durgunluk fazına girerken bazı yapısal ve fizyolojik değişimler geçirmek suretiyle, bu şekilde sıcaklık değişimleri ile oksidatif, ozmotik ve asit streslerine daha dirençli hale gelerek, konak dışında yasama şanslarını yükselttikleri belirtilmiştir (Rees ve ark., 1995). Gram negatif bakterilerde, yapısal ve fizyolojik değişimleri oluşturan genin *rpoS* olduğu (Loewen ve ark., 1998) ve *C. jejuni*'nin bu gene sahip olmadığı kaydedilmiştir (Parkhill ve ark., 2000). Durgunluk fazındaki hücrelerin sıcaklık değişimi ile oksidatif strese üreme fazı hücrelerinden daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur.

9

1.4.3. Oksidatif stres

Patojen bakterilerin, oksijenli ortamda süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen ara ürünleri (Reactive Oxygen Intermediates - ROIs) oluşturdıkları bildirilmiştir. Bu radikallerin ise ortamdaki uzaklaştırılmadığında membranlara, nükleik asitlere ve proteinlere zarar verebileceği bildirilmiştir (Park, 2002). Birçok prokaryotik hücrenin, reaktif oksijen ara ürünlerini nötralize eden anti-oksidan enzim sentezini gerçekleştirdiği kaydedilmiştir. *Campylobacter* türlerinin gelişimi için mikroaerofilik ortamın ideal olduğu, oksijen konsantrasyonu yüksek ortamlarda reaktif oksijen ara

ürünlerinin, bakteriyi inhibe edebileceği bildirilmiştir (Jones ve ark., 1993). Bununla birlikte, *Campylobacter* türlerinin oksijenli ortamlarda canlılıklarını sürdürülebilmek için, demir taşıma sistemi destekli süperoksit dismutaz (Pesci ve ark., 1994; Purdy ve Park, 1994; Purdy ve ark., 1999), alkil hidroperoksit redüktaz (Baillon ve ark., 1999) ve katalaz (KatA) (Grant ve Park, 1995; Purdy ve ark., 1999) gibi enzimleri sentezledikleri bildirilmiştir.

1.4.4. Ozmotik stres

Campylobacter türlerinin, ozmotik stres altında canlılıklarını kaybetmelerinin nedeni, sıvıların sınırlı taşıma ve akümülyasyon yeteneğine bağlanmaktadır. Doyle ve Roman (1982a) *Campylobacter* türlerinin ozmotik strese dayanıklı olmadıklarını saptamışlardır. *C. jejuni*'nin, atılımı oldukça güç olan prolin, betain ve trehaloz gibi osmotik stresi arttıran molekülleri, *proP* geninin kodladığı bir atılım sistemi sayesinde, uzaklaştırabildiği kaydedilmiştir (Parkhill ve ark., 2000).

1.4.5. Quorum Sensing

Quorum sensing, çevre koşullarına göre genetik düzenlemelerin yapılarak, bakteriyel etkileşimlerin ve iletişimin sağlanmasıdır (Bassler, 1999). *C. jejuni*'nin quorum sensing için LuxS temelli acyl homoserine laktone (AHL) üretmediği bilinmektedir. Buna karşın, sentezlediği otoindüser 2 hücre dışı proteinleriyle quorum sensing yaptığı belirtilmiştir (Surette ve ark., 1999).

10

1.4.6. Canlı fakat kültüre edilemeyen form (Viable but nonculturable- VBNC)

C. jejuni'nin, VBNC formu tam olarak anlaşılamamıştır. Farklı ortamlardaki stres koşullarına bağlı olarak, *C. jejuni*'nin canlılığını koruduğu ancak geleneksel kültür metotları ile izole edilemediğini bildiren Roszak ve ark.'nı (1984) takiben *C. jejuni*'nin VBNC formu ilk kez Rollins ve Colwell (1986) tarafından tanımlanmıştır. VBNC formdaki *C. jejuni*'nin, kültüre edebilir forma dönüştürülmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Saha ve ark., 1991; Jones ve ark., 1991a; Jones ve ark., 1991b; Medema ve ark., 1992; Cappelier ve ark., 1997). Embriyolu yumurta pasajının etkenin izolasyon şansını artırması, ancak canlı hayvan pasajlarının sonuç vermemesi, *C. jejuni*'nin VBNC formunun varlığına ilişkin tartışmalara neden olmaktadır. Tholozan ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada, sınırlı sayıda izolatın VBNC formda bulunduğunu ve bu özelliğin suslara bağlı olduğunu belirtmişlerdir. *Campylobacter* türlerinde, stres koşullarında morfolojik değişimlerin görülebildiği kaydedilmektedir (Buck ve ark., 1983; Moran ve Upton, 1987). Bu bakterilerin, morfolojik değişim sonucu kokoid forma geçtiği bildirilmektedir. Başlangıçta bu durum, VBNC forma dönüşüm olarak rapor edilse de, daha sonra azalan nükleik asit ve protein içeriği sonucu hücrenin dejeneratif bir formu olduğu belirlenmiştir (Moran ve Upton, 1987; Talibart ve ark., 2000). Buna karşılık, Kelly ve ark. (2001) çalışmalarında tüm kokoid hücrelerin ölü olduklarını bildirmişlerdir. Lazaro ve ark. (1999) ise, VBNC forma geçen *C. jejuni* hücrelerinde morfolojik değişim olmadığını, spiral ve çubukçuk formlarını koruduklarını saptamışlardır. Hazeleger ve ark. (1995) farklı sıcaklıkların kokoid hücre oluşumunu hızlandırdığını bildirmişlerdir.

1.5. *C. jejuni*'nin tutunma özellikleri ve biyofilmlerde bulunusu

C. jejuni'nin, et ve diğer yüzeylere tutunma ile biyofilmlerde bulunma özelliğinden dolayı, kesimhanelerde çapraz kontaminasyona neden olduğu ortaya konmuştur (Cloak ve ark., 2001a; Cloak ve ark., 2001b). Kanatlı kesim prosesi sırasında, bağırsaktan deriye bulaşan *C. jejuni*'nin, mikroaerofilik özellik gösteren tüy foliküllerine yerleştiği bildirilmiştir (Frank, 2001).

Biyofilmler su sistemlerine tutunmuş bakterilerin, çeşitli çevresel streslerden korunmasını sağlamaktadır. Kümes su sistemlerinde oluşan ve *C. jejuni* içeren biyofilmlerde, etkenlerin 12-23°C'de 7 gün boyunca canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Ancak, piliç kümeslerinden elde edilen biyofilmlerde *C. jejuni*'nin canlılığını korumasının, ortamda yarısamacı bakterilerin varlığına, ekzosellüler polisakkarit oluşturmaları ve biyofilmin derinliğine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Federighi ve ark., 1998). Aynı şekilde biyofilm yapısında bulunan *C. jejuni*'nin klorine duyarlı olmasına karşın, kuarterner amonyum bileşiklerine dirençli oldukları bildirilmiştir (Trachoo ve Frank, 2002).

Yine, *C. jejuni*'nin planktonik veya biyofilm yapısında bulunmasının etkenin canlı kalabilme, protein sentezleme ve patojenite özelliklerinde belirgin bir farklılık oluşturduğu bildirilmiştir. Dykes ve ark. (2003) biyofilm yapısında bulunan *C. jejuni* suslarının, çeşitli stres faktörlerini azaltmak için artan miktarlarda protein sentezlemeleri sonucu, canlı kalabilme sürelerinin kısaldığını saptamışlardır.

1.6. Termofilik *Campylobacter* türlerinin antibiyotik direnci

Tüm dünyada, kullanılan antibiyotiklerin yarısından fazlasının çiftlik hayvanlarına uygulandığı bildirilmiştir. Uygulamaların büyük bir kısmının, gelişimi hızlandırıcı ve koruyucu amaçla yapıldığı, tedavi amaçlı antibiyotik kullanımının ise az olduğu bildirilmektedir (Aarestrup ve Wegener, 1999). Ancak, bilinçsiz antibiyotik kullanımının hem patojenlerde hem de, patojen olmayan bakterilerde direnç oluşturduğu rapor edilmiştir (Threlfall, 2004).

Florokinolonlar, gelişimi hızlandırıcı etkilerinin yanı sıra insanlarda salmonellozis ve campylobacteriosis olgularının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, *Campylobacter* türlerinin florokinolonlara karşı belirgin bir direnç geliştirdiği de bildirilmektedir (Svedhem ve ark., 1981; Hollander, 1983; Rautelin ve ark., 1991; Nachamkin ve ark., 2002; Rautelin ve ark., 2003; Avrain ve ark., 2003; Ishihara ve ark., 2004; Grieg, 2003; Maryhofer ve ark., 2004; Jain ve ark., 2005). FDA (Gıda ve İlaç Dairesi = Food and Drug Administration) Veteriner

12

Hekimliği Merkezi (Center for Veterinary Medicine) 1996 yılında, hindi ve piliçlerde öldürücü seyreden bazı infeksiyonlarda tedavi amacıyla, florokinolonların kullanımını serbest bırakmıştır. Çiftlikler daha çok koruyucu amaçla, kanatlı hayvanlara florokinolonları uygulamaya başlamış ve 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm kanatlı hayvan çiftliklerinin % 63'ünün florokinolon preparatlarını kullandığı vurgulanmıştır. Ancak, 31 Ekim 2000 tarihinde FDA Veteriner Hekimliği Merkezi Baytril'in kanatlı hayvanlarda kullanımının yasaklanmasını önermiştir. Buna neden olarak da, kanatlı hayvanlarda florokinolon kullanımının florokinolona dirençli campylobacteriosis infeksiyonlarında artışa neden olacağı ve insanların tedavisinde florokinolonların cevap vermeyeceği gösterilmiştir (Radostis ve Rubinstein, 2002). İnsan ve hayvan kökenli izolatların florokinolon direncini konu alan çalışmalar ve sonuçları Çizelge 1.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. İnsan ve piliçlerden izole elde edilen florokinolon dirençli *Campylobacter* türleriyle ilgili çalışmalar.

Yıl _zolasyon

kaynağı

Yer _zolat

sayısı

Tür Direnç (%) Referans

1981 _nsan _sveç 72 *C. jejuni* % 11 (Nali) Svedhem ve ark. (1981)

1981 piliç _sveç 13 *C. jejuni* % 39 (Nali) Svedhem ve ark. (1981)

1983 _nsan Almanya 256 *Campylobacter*

spp.

% 15 (Nali) Hollander (1983)

1990 _nsan Finlandiya 100 *Campylobacter*

spp.

% 9 (Cipro) Rautelin ve ark. (1991)

1995 _nsan A.B.D. 24 *C. jejuni* ve *C.*

coli

% 20 (Cipro) Nachamkin ve ark. (2002)

1999 _nsan Finlandiya

_spanya

Tayland

678 *C. jejuni* % 82 (Nali) Rautelin ve ark. (2003)

1999 _nsan Büyük

Britanya

3489 *C. jejuni* % 63 (Nali) Rautelin ve ark. (2003)

1999 piliç eti Fransa 93 *C. jejuni*

C. coli

% 25(Nali)

% 43 (Nali)

Avrain ve ark. (2003)

1999-

2001

Piliç disküsü Japonya 283 *C. jejuni* % 25 (Nali) Ishihara ve ark. (2004)

2000 _nsan Büyük

Britanya

554 *C. jejuni* % 72 (Nali) Grieg (2003)

2000-

2003

piliç eti Avusturya 261 *C. jejuni* % 40.7 (Nali) Maryhofer ve ark. (2004)

2002 _nsan Hindistan 36 *C. jejuni* % 71.4 (Cipro) Jain ve ark. (2005)

Nali: Nalidiksik Asit ; Cipro: Siprofloksasin

13

1.7. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu

Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda klasik kültür tekniği ve hızlı teknikler olmak üzere iki ayrı yöntem kullanılmaktadır.

1.7.1. Klasik kültür teknikleri

Termofilik *Campylobacter* türlerinin klasik kültür tekniği ile izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan yöntemler arasındaki temel farklılıklar, inkübasyonda uygulanan sıcaklık dereceleri, selektif antibiyotik konsantrasyonları ile oksijen derivatlarından korumak için besi yerine ilave edilen maddelerin farklı olusundan kaynaklanmaktadır (Federighi ve ark., 1999). *C. jejuni* izolasyonunda kullanılan bazı antibiyotikler ve inhibitörük etkileri Çizelge 1.5.'de gösterilmiştir (Trachoo, 2003).

Çizelge 1.5. *C. jejuni* izolasyonunda kullanılan bazı antibiyotikler ve inhibitörük etkileri (Trachoo, 2003).

Antibiyotik _nhibitörük Etki

Vankomisin Gram pozitif koklar

Polimiksin B *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp.

Trimetoprim laktat *Proteus* spp.

Sefalosporinler *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*,

Serratia spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterioides fragilis*

Amfoterisin B Maya ve küfler

Sikloheksimid (Aktidion) Maya ve küfler

Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda, antibiyotik supplementi

içeren besi yerlerini 37°C yerine, 42°C'de inkübasyona bırakan ilk araştırmacılar Butzler ve Skirrow'dur (1979). Bolton ve Robertson (1982) ise izolasyonda selektiviteyi sağlayan Preston ve CCD agarı geliştirmişlerdir. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda, besi yerlerine ilave edilen sefozolinin yerine, Gram negatif bakteriler üzerine daha güçlü inhibe edici etkisi olan sefoperozonun tercih edildiği bildirilmiştir. Preston brot içerisinde bulunan polimiksinin Gram negatif mikroorganizmalar üzerine (*Proteus* spp. hariç) güçlü bir inhibisyon özelliğinin olduğu, trimetoprimin *Proteus* spp.'ni inhibe ettiği, rifampisin'in ise Gram pozitif mikroorganizmalar üzerine etki gösterdiği

14 kaydedilmiştir. İzolasyon için kullanılan katı besi yeri CCDA'ya oksijen toksisitesinin giderilmesi amacıyla kan, etkin kömür (charcoal), demir sülfat ve sodyum piruvat katılması uygun bulunmuştur (Corry ve ark. 1995). Fricker (1984), *C. jejuni* ve *C. coli*'nin izolasyonu amacıyla 198 adet piliç karacigerine farklı ön zenginleştirme metodları uygulamıştır. Bu amaçla kullandığı ön zenginleştirme brotları ve içerikleri Çizelge 1.6.'da verilmistir. Aynı çalışmada, farklı inkübasyon süresi uygulanan ve farklı brotlarda yapılan zenginleştirme işlemi takiben, Preston agardaki izolasyon oranlarına ilişkin elde edilen sonuçlar Çizelge 1.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.6. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için kullanılan ön zenginleştirme brotları ve içerikleri (Fricker, 1984).

Çizelge 1.6. içindeki maddeler Preston Doyle ve

Roman

Campy-Thio Lander

Bazal Medyum Nutrient brot

no:2

Brucella brot Thioglycollate

brot

Veal infüzyon

brot

Kan % 5 lize at

kanı

% 7 lize at kanı % 10 tam koyun

kanı

% 7 lize at

kanı

Cephalotin (mg/l) 15

Polymyxin (i.u./l) 5.000 20.000 2.500 50.000

Rifampicin (mg/l) 10

Trimethoprim (mg/l) 10 5 5 10

Vancomycin (mg/l) 15 10 40

Amphotericin B (mg/l) 2

Cyclohexamide (mg/l) 100 50 100

Sodium succinate % 0.30

Cysteine hydrochloride % 0.01

5-Fluorouracil (mg/l) 100

Charcoal % 0.5

FBP (Ferrous sulphate,

sodium metabisulphite,

sodium pyruvate)

% 0.05 % 0.05 % 0.05 % 0.05

15

Çizelge 1.7. *C. jejuni* ve *C. coli*'nin 42°C'de farklı sürelerde inkübe edilen ve farklı brotlarda yapılan ön zenginleştirme işlemine göre izolasyon oranları (Fricker, 1984).

İnkübasyon süresi (saat) (Ön)

zenginleştirme

brotu

24 48 72

Toplam pozitif

Campy-Thio 69/198 61/198 42/198 69/198

Lander 126/198 158/198 133/198 159/198

Doyle ve Roman 153/198 170/198 112/198 176/198

Preston 149/198 174/198 121/198 176/198

Fricker (1984), en etkin ön zenginleştirme brotlarının Preston ve Doyle-Roman brot olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Mossel (1985), cephalotin ilave edilmiş ön zenginleştirme brotlarının *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda daha selektif olduğunu kaydetmiştir. Uyttendale ve Debereve (1996) ile Jofensen ve ark. (2003) termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda, Preston brot'un selektif olduğunu belirlemişlerdir. Bolton ve Robertson agar ile modifiye *Campylobacter* blood free selective agarın (mCCDA) kıyaslandığı bir başka çalışmada, mCCD agarda % 46 oranında izolasyon sağlanmasına karşın, Bolton ve Robertson agarda izolasyon oranının % 30.5 düzeyinde kaldığı belirtilmiştir (Whyte ve ark. 2003). Klasik kültür tekniğinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılan hippurat hidroliz testi, *C. jejuni*'nin diğer türlerden ayrımında kullanılmaktadır. *C. jejuni* hippuratın peptit bağlarını yıkımlayarak, glisin ve benzoik asit meydana getirmektedir. Benzoik asidin, demir klorit indikatörü ile saptandığı, glisinin ise ninhidrin ile reaksiyona girerek, mor renkli halka oluşturdugu bildirilmiştir. Ancak, hippurat hidroliz testinin anaerob ortamdan, inokulum miktarından, inkübasyon süresinden ve sıcaklık derecesinden etkilenebileceği bildirilmiştir. Test aerob ortamda ve kısa sürede yapıldığı için inokulum miktarı, inkübasyon süresi ve sıcaklık derecesi test sonucunu etkilemektedir (Trachoo, 2003).

ISO (The International Organization for Standardization) (1995), termofilik *Campylobacter* türlerinin yem ve gıdadan izolasyonu için ön zenginleştirme amacıyla Preston brot'u, katı besi yeri olarak mCCD agarı önermiştir (Anon., 16

1995). Daha sonra hazırlanan taslakta ise, selektif ön zenginleştirme amacıyla, sadece Bolton brot önerilmiştir (Anon, 2004d).

1.7.2. Hızlı identifikasyon metotları

Klasik kültür tekniklerinin hem pahalı olması, hem de çok zaman almalarından dolayı, identifikasyonda daha hassas ve hızlı identifikasyon tekniklerinin geliştirildiği kaydedilmiştir. Hızlı teknikler sayesinde, hem zaman tasarrufu sağlanabilmekte hem de, identifikasyonlar daha duyarlı biçimde yapılabilmektedir (Madigan ve ark., 2003).

1.7.2.1. İmmunolojik tespit metotları

İmmunolojik tespit metotları, daha çok klasik kültür metodu ile elde edilen *Campylobacter* türlerinin doğrulanması amacıyla kullanılmaktadır. İmmunolojik yöntemlerin prensibi, kültür ortamından alınan bakteri solusyonundan antijenlerin açığa çıkarılarak, spesifik polivalan anti-serumlarla latex ortamında stabilize edilen *Campylobacter* türlerinin, antikorlarla verdiği reaksiyona dayanmaktadır (Hazeleger ve ark., 1992). Buswell ve ark. (1998), biyofilmlerde *Campylobacter* türlerinin tesbitinde, immunofloresan antikor boyama tekniğinin uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Yu ve ark. (2001) piliç etinden *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda immuno manyetik seperasyon (IMS) tekniğini kullanmışlar (Anti-*Campylobacter*

Dynabead) ve bu teknikte *Campylobacter* türlerinin saptamasında alt sınırın 10⁴ kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

1.7.2.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR), *in vivo* koşullarda gerçekleşen DNA replikasyon işleminin, *in vitro* koşullara taşınması olarak tanımlanmıştır. PCR tekniğinde, tüm DNA zincirinin kopyalanması yerine, ilgili gen bölgesinin kopyalanmasıyla spesifik veriler elde edilebilmektedir (McPherson ve Møller, 2000). PCR işlemiyle bir test tüpü içerisinde tek bir DNA parçasının milyarlarca katına çıkartılabilmesi mümkündür. Dolayısıyla çalışmalarda klonlama, sekanslama, mutasyona uğratma

17 amacıyla yüksek miktarda gen elde edilebilmektedir (Madigan ve ark., 2003). PCR tekniğinde ilgi alanı olan gen sekansının bilinmesi, kısa oligonükleotid primerlerin sadece bu bölgeyi üretebilmeleri için gereklidir. PCR işlemindeki aşamalar şu şekilde bildirilmiştir:

1. İlgili DNA parçasının ısıtılarak denatüre edilmesi ve ikili sarmal halinden bağımsız iki zincir haline dönüştürülmesi,
2. Oligonükleotid primerlerin, azotlu bazların ve DNA polimerase enziminin ortama katılması ve ortamın soğutulması,
3. DNA polimerase enziminin primerleri kullanarak ilgili bölgenin sentezinin sağlanması,
4. Belirli bir inkübasyon süresinin sonunda, ilk işlemin yenilenerek hedef DNA parçasının belirli bir sayıya ulaşması (Madigan ve ark., 2003).

Bu işlemler sırasında ortamda bulunan ve sentezlenen tüm hedef gen parçaları, primerlerle yeni bir gen parçası oluşturma yeteneğine sahip oldukları için, kısa zamanda çok yüksek yoğunlukta DNA konsantrasyonu elde edilebilmektedir. PCR döngüsü ve her döngü sonucu elde edilen gen miktarları Şekil 1.1’de gösterilmiştir. (Madigan ve ark., 2003).

Oyofu ve ark. (1992), PCR metodu ile dışkı örneklerindeki *Campylobacter* türlerinin tamamını saptadıklarını ettiklerini ancak, patojen türlerin tanımlanması için serotiplendirmenin gerekliliğini vurgulamışlardır. Wegmüller ve ark. (1993) süt ve süt ürünlerinden kültür tekniği kullanmadan direkt olarak PCR tekniğiyle *C. jejuni* ve *C. coli* izolasyonu amacıyla, *flaA* ve *flaB* genlerini kullandıklarını bildirmişlerdir. Bu amaçla mevcut suslarla kontamine edilen süt, peynir ve yogurt örneklerinde direkt PCR tekniğinin başarılı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Uyttendale ve ark. (1996), 10¹ kob/ml düzeyinde *Campylobacter* spp. ile kontaminasyonunu PCR tekniği kullanarak direkt olarak dışkıdan saptayabildiklerini bildirmişlerdir. Ng ve ark. (1997), *C. jejuni*’nin tespitini dış membranını kodlayan pDT1720 geni ile yapmıştır.

18

Şekil 1.1. PCR döngüsü ve her döngü sonucu elde edilen gen miktarı (Madigan ve ark., 2003)

Waegel ve Nachamkin (1996) PCR tekniği ile 66 adet donmuş dışkı örneğinde *Campylobacter* spp.’nin varlığını araştırdıkları çalışmalarında, flagella proteinlerinin sentezini indükleyen *flaA* genini kullanmışlardır. Kültür metodu ile 18 örnekte *C. jejuni* ve 1 örnekte *C. coli* tanımlanırken PCR metodu ile 19 *Campylobacter* izolatu elde edilmiş bunlardan 15’inin (% 78.9) *C. jejuni* olduğu belirtilmiştir.

Gonzalez ve ark. (1997), *C. jejuni* ve *C. coli*’nin ayrımı amacıyla her iki türde farklı dizilim gösteren ve siderofor taşıma proteinini kodlayan *ceuE* genini kullandıklarını bildirmişlerdir. *C. jejuni* susları için 793 baz çiftinden (bp) oluşan bant

pozitif kabul edilirken, *C. coli* susları için 894 bp bant pozitif kabul edilmiştir. Hippurat negatif *C. jejuni*'lerin tanımlanması amacıyla *ceuE* geni esas alınarak yapılan bir çalışmada 18 termofilik *Campylobacter* izolatının 13'ü *C. coli* ve 5'i *C. jejuni* olarak tanımlanmıştır (Rautelin ve ark.,1999). Aynı şekilde, Houng ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, diyareli çocuklardan alınan 358 gaita örneğinin 19

186'sında (% 52) klasik kültür metoduna göre *C. jejuni* bulunmasına karşın, aynı örneklerin *ceuE* genine özgü primerler kullanılarak PCR tekniği ile incelenmesinde örneklerin 275'inde (% 77) *C. jejuni* saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, PCR tekniğinin klasik kültür metoduna oranla daha hızlı ve duyarlı olduğu, ayrıca *ceuE* geninin belirlenmesinin *C. jejuni* ve *C. coli*'nin ayırımında, hippurat hidrolizi testine göre daha güvenilir olduğu bildirilmiştir (Gonzalez ve ark., 1997; Rautelin ve ark.,1999; Houng ve ark., 2001; Ertas ve ark., 2002; Bang ve ark., 2003).

1.8. *C. jejuni*'den kaynaklanan infeksiyonların patogenezi

C. jejuni ve *C. coli*'nin, çevresel stres koşullarında yaptıkları genetik düzenlemeler ve sahip oldukları virulens determinantları sayesinde, gıda ve konaklarda canlılıklarını sürdürebildikleri bildirilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle, basta kontamine piliç eti ve ürünleri olmak üzere, diğer gıda ve sularla insanlara bulularak, *Campylobacter* infeksiyonlarına neden olurlar (Crushell ve ark., 2004).

Campylobacter türlerinin virulens faktörleri Çizelge 1.8.'de gösterilmiştir (Parkhill ve ark., 2000).

Gıda ve suyla alınan *Campylobacter* türleri, mide asit bariyerini geçerek konakçıda bağırsagın ileum (distal) ve kolon bölgelerine kolonize olurlar. Bunu takiben etkenlerin, bağırsak epitel yüzeyindeki mukusu geçerek, epitel hücrelerine tutundukları bildirilmiştir. Yangısal cevabın oluştuğu bu dönemde, etkenlerin toksin üretimiyle, bağırsak epitel hücrelerinin mitoz bölünmelerini baskıladıkları kaydedilmiştir (Newell ve Nachamkin, 1992; Ketley, 1997).

20

Çizelge 1.8. *C. jejuni*'nin virülens faktörleri ve görevleri (Newell ve Nachamkin,1992; Parkhill ve ark., 2000).

Konakçıya ait faktörler (Newell ve Nachamkin, 1992)

Sitoskeletal düzenlenme

Mikrotubuller

Mikrofilamentler

C. jejuni'nin hücre içi hareketini kolaylaştırmak, hücre içi vakuol oluşumuna katkıda bulunmak

Tirozin fosforilasyonu Vakuol içinde bulunan *C. jejuni*'ye enerji kaynağı sağlamak

IL-8 indüksiyonu Yangısal cevabı oluşturmak

Apoptozis Hücrenin lizisini sağlayarak diğer hücrelere invazyonu kolaylaştırmak

Bakteriye ait faktörler (Parkhill ve ark., 2000)

_nvazyon

Flagella

pVIR (Tip 4 salgılama

organeli)

Hücre içi girişin sağlanması

Motilitenin artırılarak hızlı bir invazyon sağlanması

Hücre duvarından substratları enjekte ederek duvarların esnekliğinin

artması

Sitoletal Distending Toksin

(CDT)

DNase etkisi ile bağırsak epitel hücrelerinin üreme döngüsünü inhibe eder.

_nvazyonu hızlandırır ve bağırsak epitel hücrelerini stabilize eder (Sitodistansiyon).

Motilite/Semotaksis Hareketlilik sayesinde invazyon artarak, yayılım sağlar.

Salgılanan efektör proteinler

(CIA proteinleri)

Salgılanan proteinlerle bağırsak epitel hücrelerini *C. jejuni*'nin kullanabileceği ürünler sentezlemeye zorlar.

Adezyon

PEB1

CadF

MOMP

CPS

LOS

Adezyonu güçlendirici proteindir.

Fibrinonektine bağlanmayı sağlayan proteindir.

Major Dış Zar Proteini (Major Outer Membrane Protein)

(γ -mmunglobulin (Ig) oluşumunu sağlar)

Kapsüler polisakkarit (Ig oluşumunu sağlar)

Lipopolisakkarit (Ig oluşumunu sağlar)

C. jejuni'nin, konakçı bağırsak epitel hücreleri ile etkileşimleri Şekil 1.2'de gösterilmiştir. Şekil 1.2'ye göre sırasıyla; (A) Hareketlilik özelliği ile mukus tabakayı geçen *C. jejuni*'nin; konakçı hücrelerine tutunması gösterilmektedir. Burada adezin reseptör etkileşimleri (major dış membran proteinleri, lipooligosakkarit, kapsüler oligosakkarit, CadF, JlpA ve PEB1) rol oynamaktadır. (B) Mikrotubul ve

21 mikrofilamentler yardımıyla hareketlilik kazanan *C. jejuni*, hücre içinde çoğalmaya başlamaktadır. (C) Bakteri tarafından salgılanan sitoletal distending toksin (CDT), DNase özelliğine sahip olup konakçı hücrelerinin gelişimini inhibe etmektedir. CDT'nin salınım zamanı tam olarak bilinmemekle birlikte, konakçı tarafından alınımı takiben, bağırsaklardan salınmaya başladığı düşünülmektedir. (D) Hücreler arası bağlantıyı kullanarak, diğer hücrelerde de invazyona neden olduğu ortaya konulmuştur (Crushell ve ark., 2004).

Şekil 1.2. *C. jejuni* 'nin konakçının bağırsak epitel hücreleri ile etkileşimi (Crushell ve ark., 2004).

1.9. *C. jejuni*'den kaynaklanan gıda enfeksiyonlarının semptomları

C. jejuni'den kaynaklanan gıda enfeksiyonlarında görülen semptomların sosyokültürel yapıya, konakçı bağışıklık sistemine, konakçı bağırsak mikroflorasına ve bakterinin serotipine göre değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir.

Campylobacteriosis, enterik ve ekstra enterik olmak üzere iki farklı semptomla seyretmektedir (Crushell ve ark., 2004).

C. jejuni enfeksiyonlarında minimal infektif doz 5.0×10^2 kob/ml olarak bildirilmiştir (Robinson, 1981; Cawthraw ve ark., 1996; Kothary ve Babu, 2001).

1.9.1. Enterik semptomlar

C. jejuni'nin sebep olduğu enfeksiyonlarda görülen semptomların, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu farklılıklarda

IEL
Mitoz
engellenmesi

B

C

A

C

D

D

Tirozin PO₄

Protein

Sekresyonu

Mukus tabaka

NÜKLEUS

Mitoz engellenmesi

Sitodistansiyon

IL8 bırakılması

Miyofilament Mikrotubuller

sadece beslenme alışkanlıklarının değil, konakçı bağışıklık sisteminin, bağırsak mikroflorasının ve bakterinin virülens determinantlarındaki değişikliklerin etkili olduğu düşünülmektedir. *C. jejuni* kaynaklı infeksiyonlardan, gelişmekte olan ülkelerde genellikle çocukların etkilendiği, asemptomatik seyrettiği gibi, bazen yangısal olmayan hafif sulu bir diyare meydana gelebileceği bildirilmiştir. Gelişmiş ülkelerde ise genellikle yumusak dışkıdan, sulu, bazen de kan ve mukus içerebilen diyareye kadar değişen bir klinik tablo görülebildiği, diyareye genellikle karın krampları, ates ve bulantı ile nadiren kusmanın da katılabildiği kaydedilmiştir. Yine görülen semptomların, bir hafta içerisinde kaybolduğu ancak, etkenin hasta bireylerin gaitasıyla 16. güne kadar yayılabildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde, hastaların % 20'sinde reinfeksiyon oluşabildiği ancak, semptomların öncekine göre daha hafif seyrettiği kaydedilmiştir (Ketley, 1997; Slutsker ve ark., 1998; Butzler, 2004). Bununla birlikte, immun sistemi baskılanmış bireylerde infeksiyonun daha ağır ve uzun seyreden formu olan, bakteriyemi tablosunun meydana geldiği ve ekstra intestinal semptomların da görüldüğü bildirilmiştir. AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome-Kazanılmış Bağışıklık Yetmezliği Sendromu) hastalarında, *C. jejuni* insidansının hastalığa yakalanmamış popülasyona oranla 40-100 katı olduğu rapor edilmiştir (Pigrau ve ark., 1996; Pigrau ve ark., 1997)

1.9.2. Ekstra enterik semptomlar

C. jejuni'nin, tüm dünyada en sık rastlanan gastroenterit etkeni olmasının yanı sıra hamilelerde düşüklere ve prematüre doğumlara, reaktif artritise, Guillain Barré Sendromu'na (GBS), Hemolitik Üremik Sendrom'a (HUS), endokardit ve pnömonilere de neden olduğu bildirilmiştir (Slutsker ve ark., 1998; Butzler, 2004). *C. jejuni*'nin hamile bireylerde meydana getirdiği bakteriyemi prematüre doğuma, doğum sepsisine ve neonatal meningitise neden olabilmektedir. Gebeliğin son 1/3'ünde ortaya çıkan infeksiyonlarda, prematüre doğum riskinin oluştuğu gebeliğin başlangıcında oluşan infeksiyonlarda ise, ölü doğum riskinin % 80 düzeyinde olduğu bildirilmektedir (McDonald ve Gruslin, 2001).

23

Guillain Barré Sendromu (GBS) genelde *C. jejuni* infeksiyonlarını takip eden dönemde ortaya çıkan, ekstremlerde zayıflık ve arefleksi ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (Yuki, 2001). GBS'de, sinir yüzeyine özgü bazı proteinlerde meydana gelen (GM1, GM1b, GD1a, veya GalNAc-GD1a) demyelinizasyon sonucu, ağır bir klinik seyir olduğu rapor edilmiştir (Yuki ve ark., 1990). *C. jejuni*'nin moleküler taklitçilik yeteneğini kullanarak, sinir yüzey proteinlerine benzer antijenik determinantlar geliştirdiği bildirilmektedir (Allos, 1997; Yuki ve ark., 2000). Nöron yüzeyinde ve *C. jejuni* lipopolisakkaritlerinde (LPS) ortak antijenik yüzey Sekil 1.3.'de gösterilmiştir (Yuki, 2001).

C. jejuni infeksiyonundan sonra meydana gelen GBS'de etkin olan anti-GM1 antikorlarının, aynı hastalardan izole edilen *C. jejuni* ile serolojik tepkime verdiği bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda, *C. jejuni*'nin, hücre duvarı lipopolisakkaritlerini, sahip olduğu moleküler taklitçilik yeteneği ile sinir hücrelerine benzetme özelliği olduğu da ortaya konmuştur (Yuki ve ark., 1990). Yapılan genetik çalışmalarda, *cst* (*Campylobacter* Sialyl Transferase) ve *cgt* (*Campylobacter* Galactosyl Transferase) genlerinin moleküler taklitçilik yeteneğinde görev yaptığı bildirilmiştir (Gilbert ve ark., 2000). Bunların yanı sıra *neuB1* (Multiple N-Acetyl Neurominic Acid Synthetase) geninin, anti-GM1 antikorlarının meydana gelmesine

neden olan, siyalik asit sentezini indüklediği bildirilmiştir (Linton ve ark., 2000). GBS'nin, insidensine ilişkin yeterli bilginin bulunmadığı, bu sendromla *C. jejuni*'nin sadece belirli serotiplerinin bağlantılı olabileceği vurgulanmıştır (Yuki ve ark., 2000).

Sekil 1.3. Nöron yüzeyinde ve *C. jejuni* lipopolisakaritlerinde (LPS) ortak antijenik yüzey (Yuki, 2001).

GM1 Epitepü (Nöron yüzeyinde)

C. jejuni LPS

1-

3

1-

4

1-

4

1-

1

2-

3

1-

3

1-

4

1-

4

Hep_-LPS

2-

3

2-

3

2-

3

Glikoz

N-Acetylgalactoseamine

N-Acetylneuraminic

acid

Galaktöz

24

1.10. *Campylobacter* türlerinin gıdalarda bulunusu

Termofilik *Campylobacter* infeksiyonlarına neden olan risk grubu gıdalar arasında; kanatlı eti, kırmızı et, sakatat, karides, midye, yengeç, süt, ve sebzelerin yanı sıra su da yer almaktadır (Baker ve ark., 2002).

1.10.1. Kanatlı eti ve ürünleri

C. jejuni'nin kanatlıların sindirim kanalına girdikten hemen sonra, hızla kolonize olmaya başladığı ve kolonizasyonu takiben dışkı ile çevreye yayılarak tüm sürünün kontamine olmasına neden olduğu kaydedilmektedir. Kontamine sürülerden elde edilen ürünlerin islenmesi sırasında, çapraz kontaminasyonların meydana geldiği bildirilmektedir (Yıldız ve Diker, 1992; Van de Giessen ve ark., 2000; Vellinga ve Van Lock, 2001; Baker ve ark., 2002).

Whyte ve ark. (2004) 444 piliç eti, 33 hindi eti ve 11 ördek etinde termofilik *Campylobacter* türlerinin sırasıyla % 49.9, % 37.5 ve % 45.8 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, piliç etlerinden izole edilen 444 izolatın 376'sı *C. jejuni* (% 84.7), 68'i *C. coli* (% 15.3) olarak tanımlanmıştır.

Büyük Britanya'da, 1500 market ve kasaptan nisan, mayıs, haziran aylarında toplanan 4886 piliç eti örneğinin 2697'sinin (% 55.4) termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, İngiltere, Galler, İskoçya, Kuzey İrlanda'dan toplanan piliç eti örneklerinin sırasıyla % 46.3, 42.3, 75.4 ve 76.6 düzeyinde kontamine olduğu ve izole edilen 1636 *Campylobacter* izolatının 1210'unun (% 74.0) *C. jejuni*, 421'nin (% 25.0) ise *C. coli* olduğu belirlenmiştir (Anon, 2002c). Benzer şekilde, İskoçya'da piliç karkaslarının ve paketleme materyallerinin, termofilik *Campylobacter* türleriyle kontaminasyonunu belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, örneklenen 55 piliç göğüs etinin % 82.0'sinin, paketleme materyalinin ise % 44.0'ünün termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu saptanmıştır (Harrison ve ark., 2001).

25

De Boer ve Hahne (1990), yaptıkları çalışmada kanatlı eti ve ürünlerinden oluşan 279 örneğin % 61'inin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, gıdaların hazırlanması ve islenmesi

sırasında meydana gelen çapraz kontaminasyonlar sonucu, pismis ürünlerdeki *Campylobacter* kontaminasyon oranının % 10 düzeyinde bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Osano ve Arimi (1999), marketlerden aldıkları 100 piliç eti örneğinin % 77'sinin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine bulunduğunu ve izolatların % 59'unun *C. jejuni* olduğunu saptamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada ise, Zhao ve ark. (2001), Amerika Birleşik Devletleri'nde 59 marketten topladıkları 184 piliç eti örneğinin % 70.7'sinden, 172 hindi eti örneğinin % 14'ünden termofilik *Campylobacter* türlerini izole ettiklerini kaydetmişlerdir.

Aynı şekilde, Meldrum ve ark. (2004) çalışmalarında marketlerden topladıkları 739 piliç eti örneğinin, % 71'inden termofilik *Campylobacter* türlerini izole ettiklerini ve insidensin en fazla Haziran ayında görüldüğünü bildirmişlerdir.

Van Nierop ve ark. (2005) ise, marketlerden aldıkları 45 taze piliç karkası ve 16 dondurulmuş piliç karkası ile kasaplardan topladıkları 15 taze ve 17 donmuş piliç karkas örneklerinin, sırasıyla % 48.9, 12.5, 6 ve 23.5 düzeyinde termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir.

Campbell ve Gilbert (1995) 137 taze piliç karkasının % 56.9'undan termofilik *Campylobacter* türlerini izole ettiklerini, bir başka çalışmada ise Nielsen ve Nielsen (1999), örnekledikleri 156 taze piliç karkasının tamamının (% 100) termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Zanetti ve ark. (1996) 41 sosis, 27 domuz eti, 30 hindi eti ve 30 piliç etinden oluşan 120 örneğin sırasıyla % 2.4, 3.7, 20.0, 37.5 düzeyinde termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu, 57 yumurta örneğinde ise termofilik *Campylobacter* türlerinin izole edilemediğini bildirmişlerdir.

26

Yıldırım (1995) piliç kesimhanelerinden ve marketlerden topladığı, taze ve donmuş piliç karkaslarındaki termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığını araştırdığı çalışmasında, piliç karkaslarındaki *C. jejuni*, *C.coli* ve *C.lari* kontaminasyon düzeyinin sırasıyla % 92, 81.7 ve 6.2 olduğunu saptamıştır.

Dizgah (1996) taze piliç karkası, çiğ piliç ürünleri ve ısı islemi görmüş piliç ürünlerinden oluşan toplam 250 örneğin % 63'ünün termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğunu ve 50 adet taze piliç karkasında termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımının ise *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* için sırasıyla % 50, % 19 ve % 31 olduğunu bildirmiştir.

Özdemir ve ark. (2004) farklı iki kesimhaneden kesim işleminin tüy yolma, iç organ çıkartma sonrası, soğutma tankı çıkışı ve paketleme öncesi aldıkları bütün piliç karkas rins örneklerinin, sırasıyla % 29.1, 37.5, 37.5 ve 20.8 düzeyinde *C. jejuni* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, sıcak aylarda alınan örneklerin % 15.5'inin, soğuk aylarda alınan örneklerin ise % 14.3'ünün *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır.

Yıldırım (2005), toplam 60 piliç karaciger örneğinin 54'ünden (% 90) termofilik *Campylobacter* türlerini izole ve tanımladığını, örneklerin 25'inin (% 96.6) piliç kesimhanesinden, 25'inin (% 83.33) ise marketlerden alındığını bildirmiştir. Araştırmacı, çalışmasında izole ettiği 209 termofilik *Campylobacter* izolatının ise % 77.03'ünün *C. jejuni*, % 18.18'inin *C. coli* ve % 4.78'inin *C. lari* olduğunu bildirmiştir.

Savaşçı (2005), Ankara'nın değişik semtlerindeki marketlerden topladığı toplam 127 adet piliç eti örneğinin (44 piliç kanat, 43 piliç göğüs ve 40 piliç but örneği) 106'sının (% 83.46) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine

oldugunu bildirmistir. Arastirmacı, termofilik *Campylobacter* türlerinin saptandığı 106 örneğin 40'ının (% 86.0) piliç göğüs etine, 36'sının (% 75.0) piliç kanat etine 27

30'unun (% 62.5) ise piliç but etine ait oldugunu rapor etmistir. Aynı çalışmada, pozitif örneklerden izole edilen toplam 364 termofilik *Campylobacter* izolatının % 70.1'inin *C. jejuni*, % 21.1'inin *C. coli* ve % 8.6'sının *C. lari* olduğu bildirilmistir. Pamuk (2006), Afyon'da paketlenmeden satılan 210 piliç karkasının 141'inin (% 67.1) termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine oldugunu ve izole edilen termofilik *Campylobacter* izolatlarından 101'inin ise (% 48.09) *C. jejuni* oldugunu bildirmistir. Aynı çalışmada, kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak saptanan 101 izolatın, 62'sinin (% 61.38) PCR tekniği ile *C. jejuni* olarak doğrulandığı bildirilmistir.

1.10.2. Kırmızı et ve ürünleri

Danimarka'da piliç, sığır ve domuz kesimhanelerinin termofilik *Campylobacter* türleriyle kontaminasyon düzeyinin sırasıyla % 36, 47 ve 46 olduğu kaydedilmistir. Piliçlerden ve sığırlardan elde edilen izolatlar arasında predominant türün *C. jejuni* olduğu, domuz örneklerindeki dominant türün ise *C. coli* olduğu rapor edilmiştir (Nielsen ve ark., 1997). Madden ve ark. (1998) ise, kuzey _rlanda'daki kesimhanelerden aldıkları 100 koyun ve sığır karkas örneğinden ve paketlenmiş 50 sığır ve domuz eti örneklerinin hiçbirinden termofilik *Campylobacter* spp. izole edemediklerini bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, (Stanley ve ark., 1998) 360 adet koyun bağırsak içeriği örneklerinin % 91.7'sinin termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu, sığır bağırsak içeriği örneklerindeki kontaminasyon düzeyinin % 89.4 düzeyinde bulunduğu bildirilmistir. Aynı çalışmada, sütçü sığır ve buzağaların dışkı örneklerindeki kontaminasyonun % 69.9 olduğu kaydedilmistir. Baska bir çalışmada, toplam 1063 adet sığır karkası ve 929 adet donmuş kemiksiz sığır eti örneğinde % 0.16 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmıştır (Vanderlinde ve ark., 1998). Osano ve Arimi (1999) yaptıkları çalışmada, 50 sığır eti örneğinin % 2'sinin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine oldugunu ve izolatların tamamının 28

(% 100) *C. jejuni* oldugunu bildirmişlerdir.

Benzer şekilde yapılan bir çalışmada (Cloak ve ark., 2001a), marketlerden alınan 20 koyun kıyma örneğinin 4'ünün (% 20) ve 20 sakatat örneğinin ise 12'sinin (% 60) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olmasına karşın, 20 adet donmuş domuz karkas örneğinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin izole edilemediği bildirilmistir.

_rlanda'da incelenen 262 kuzu etinin 31'inden (% 11.8), 221 dana etinin 7'sinden (% 3.2) ve 197 domuz etinin 10'undan (% 5.1) termofilik *Campylobacter* türleri izole edilmiştir (Whyte ve ark., 2004).

Kramer ve ark. (2000) marketlerde satısa sunulan piliç, domuz ve koyun etlerinden oluşan toplam 489 örneğin, % 73.2'sinin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine oldugunu, en yüksek kontaminasyonun sırasıyla piliç eti (% 83.3), koyun eti (% 72.9) ve domuz etinde (% 71.7) saptandığını, en yüksek *C. jejuni* kontaminasyon düzeyinin ise piliç eti (% 77.3) ve koyun etinde (% 75.0) oldugunu bildirmişlerdir.

Diker (1984) koyun safra kesesi, sığır safra kesesinden ve dışkılarından oluşan toplam 824 örneğin sırasıyla % 57.3, % 34.6 ve % 18.0 düzeyinde termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine oldugunu belirtmiştir.

1.10.3. Süt ve süt ürünleri

Sığır bağırsak mikroflorasında bulunan *C. jejuni*, yetistirme ve sağım aşamasındaki yanlış uygulamalara bağlı olarak, kolaylıkla süte bulasabilmektedir. Çiğ sütlerde yapılan bir çalışmada, 108 çiğ süt örneğinin 1'inde (% 0.9) *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir (Doyle ve Roman, 1982b). Benzer şekilde, Hudson ve ark. (1999) 111 çiğ süt örneğinin, sadece 1'inde (% 0.9) *Campylobacter* türlerinin izole edildiğini

29 bildirmişlerdir. Fahey ve ark. (1995) 110 kişinin etkilendiği *C. jejuni* kaynaklı salgında, enfeksiyona pastörize edilmeyen süten neden olduğunu bildirmişlerdir. Southern ve ark. (1990) kusların kapaklarını parçalayarak zarar verdiği süt siselerinin *C. jejuni* ile kontamine olabileceğini, bu siselerdeki sütün tüketimine bağlı olarak campylobacteriosis olgularının meydana gelebileceğini belirtmişlerdir. Evans ve ark. (1996) okul gezisinde çiğ süt tüketimi sonucu 51 kişinin, 23'ünde (% 45) gastroenterit meydana geldiğini, buna bağlı olarak alınan süt ve disk örneklerinde *C. jejuni* izole edildiğini rapor etmişlerdir.

1.10.4. Sularda Bulunusu

Amerika Birleşik Devletleri'nin Vermont sehrinde 3000 kişinin içtiği sebeke suyunun sebep olduğu, *C. jejuni* kaynaklı salgının bilinen en büyük su kaynaklı salgın olduğu kaydedilmiştir (Vogt ve ark., 1982). Toplam 234 öğrenci ve 23 çalışanın etkilendiği bir başka salgında, infekte bireylerden ve su deposundan *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir (Palmer ve ark., 1983). Engberg ve ark. (1998) Danimarka'da, hastanede tedavi gören 110 kisten topladıkları gaita ve su örneklerinden, *C. jejuni* izole ettiklerini rapor etmişlerdir.

Taylor ve ark. (1983) inceledikleri su kaynaklarının % 4'ünden, bu su kaynaklarını kullanan kişilerin ise % 23'ünde *C. jejuni* saptandığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Hudson ve ark. da (1999) inceledikleri 6 su kaynağının tamamının, *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

1.11. Çiftlikten masaya piliç etlerinin *C. jejuni* ile kontaminasyon kaynakları

C. jejuni'nin bulaşma kaynakları arasında yetistirme, kesimhane, üretim alanları, ürünler ve hazırlama koşullarının yer aldığı kaydedilmiştir. *C. jejuni* ile kontaminasyon derecesinin, yetistirme koşullarına bağlı olduğu, işletme koşullarındaki hijyenik koşullara bağlı olarak artış gösterdiği ve tüketiciye kadar ulaştığı bildirilmiştir (Newell ve Fearnley, 2003).

30

1.11.1. Yetistirme aşamasında kontaminasyon

C. jejuni'nin vertikal ve horizontal olmak üzere iki şekilde bulaştığı kaydedilmiştir. Vertikal bulaşmada, anaç sürülerin üreme kanalında kolonize olan *C. jejuni*'nin meydana getirdiği kontaminasyondan, horizontal bulaşmada ise *C. jejuni* yönünden pozitif olan bir önceki sürünün atıkları, suluklar, yemlikler, taşıma ve yakalama araçları, kümes çalışanları, evcil ve yabani hayvanlardan kaynaklanan kontaminasyondan söz edilmektedir (Annan-Prah ve Janc, 1988; Newell ve Fearnley, 2003). Kümes koşullarında kontaminasyon kaynakları Şekil 1.4.'de gösterilmiştir. **Şekil 1.4.** Kümes koşullarında *Campylobacter* türleri ile kontaminasyon kaynakları (Cox ve ark., 2001).

1.11.1.1. Vertikal bulaşma

C. jejuni'nin kontamine yumurta ile bulaştığına dair kesin bir bilginin bulunmadığı buna karşılık, çeşitli *C. jejuni* suslarının damızlık piliçlere, kolonize olduğu ve etkenlerin üreme kanalının çeşitli yerlerinden de izole edildiği bildirilmiştir (Jacobs-Reitsma, 1995). Aynı şekilde, damızlık horozların spermasından izole edilen *C. jejuni* suslarının venereal bulaşmadan kaynaklanabileceği vurgulanmıştır (Cox ve ark.,

2001). Allen ve Griffiths (2001), deneysel olarak *C. jejuni* içeren bakteri solusyonuna daldırılan sağlam kabuklu yumurtalarda, % 4 düzeyinde kontaminasyon meydana geldiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, bakterinin yumurta iç zarlarına takılıp kaldığını, doğal kontaminasyonun kırık kabuklu yumurtalarda dışkı bulması sonucu olabileceğini vurgulamışlardır.

C. jejuni pozitif sürü
C. jejuni negatif sürü
Kümes
Çevresi
Rodentler
_nsekter
Suluk,
Yemlik,
Yakalama
Araçları

Yeni
Yetiştirme periyodu
Kümeste
Verilen su
Yabani
Kuslar
Personel
Vet. Hek.
Diğer işçi
Kontamine
Araçlardan
Alınan
Civcivler
Yetiştirme koşulları

?

31

1.11.1.2. Horizontal bulasma

Broiler kümesleri genellikle izole edilmiş alanlar olmalarına rağmen, piliçlere *C. jejuni* bulasmaının çeşitli şekillerde olabileceği bildirilmiştir. Sürünün, *C. jejuni* ile bulasma kaynakları arasında dezinfeksiyon yetersizliği, sürünün dışkıları ile kontamine olmuş insekt ve rodentler, yem, altlık, su ve suluklar, personel, yakalama ekipmanı, yabancı kuslar yer almaktadır (Newell ve Fearnley, 2003).

1.11.1.2.1. Yem ve altlık

Yem ve yeni altlıkların, düşük rutubet oranına sahip olmaları ve a_w -değerlerinin 0.97'nin çok altında olmasından dolayı, başlangıçta bulasma kaynakları arasında yer almadıkları bildirilmiştir. Etkenin ancak, sürü yerleştikten sonra kanatlıların dışkı, gaga ve ayaklarından yeme ve altlıklara bulasmaının söz konusu olabileceği kaydedilmiştir (Berndtson ve ark., 1996a). Yapılan bir çalışmada, (Hakkinen ve Schneitz, 1999) yeme katılan laktik asit bakterilerinin, *C. jejuni*'nin kolonizasyonunu engellediği bildirilmiştir.

1.11.1.2.2. Çeme suyu ve suluklar

Kümes su sistemlerinden izole edilen *C. jejuni* ile, aynı kümesteki kanatlıların dışkılarından elde edilen *C. jejuni*'nin, genotipik ve fenotipik olarak benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (Pearson ve ark., 1996). Kazwala ve ark. (1990) kümes su sistemlerinin, her aşamasında topladıkları örneklerden sadece suluklardan *C. jejuni* izole ettiklerini ve suyun kontaminasyonuna kanatlıların dışkısının neden olduğunu bildirmişlerdir. Suyun akıntı gücünün, yüksek oksijen konsantrasyonunun, ultraviyole ışınlarının (UV), besin maddesi yetersizliğinin ve antimikrobiyel maddelerin oluşturduğu çevresel stres sonucu, *C. jejuni*'de fiziksel hasar meydana geldiği, çevresel strese maruz kalan bakterinin, VBNC forma dönüştüğünü ve canlılık süresinin suyun sıcaklığına, susun tipine, kullanılan su sistemine ve bakterinin gelişme dönemine göre değişebileceği bildirilmiştir (Harnett ve ark., 2001). VBNC formda su ve biyofilm içerisinde bulunan *C. jejuni*'nin, infeksiyon oluşturabilme yeteneğini koruduğu belirtilmiştir (Vogt ve ark., 1982; Pearson ve ark., 1996; Harnett ve ark., 2001).

32

Yapılan bir çok çalışmada, sulukların ve su kaynakları *C. jejuni* yönünden düşük risk taşıyan kaynaklar olarak bildirilmiştir (Rollins ve Colwell, 1986; Jacobs-Reitsma, 1995; Berntson ve ark., 1996b). Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda, içme ve kullanma sularının *C. jejuni* yönünden önemli kontaminasyon kaynakları olabileceği kaydedilmiştir (Vogt ve ark., 1982; Cawthraw ve ark., 1996; Harnett ve ark., 2001; Trachoo ve ark., 2002).

C. jejuni'nin sularda bulunan *Tetrahymena pyriformis* adındaki protozoonun varlığında, bu protozoonun içine yerleşerek sudaki klorun etkisinden korunduğu bildirilmiştir. Newell ve Fearnley (2003), *C. jejuni*'nin *Tetrahymena pyriformis* ile kültüre edildiğinde, yüksek düzeyde uygulanan klorlamadan ve bazı dezenfektanlardan etkilenmediğini rapor etmişlerdir.

Yardımcı ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, deneysel olarak oral yolla *C. jejuni* ve *C. coli* ile infekte edilen civcivlerde, bağırsaklarda bakteriyel kolonizasyonun 3. haftada % 100 olarak tamamlandığını ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada, kolonize olan susların protein yapısına göre, SDS-PAGE'de % 98 düzeyinde benzerlik gösterdiği kaydedilmiştir.

1.11.1.2.3. Kümes koşulları ve çalışanlara bağlı kontaminasyon

C. jejuni pozitif sürüye ait altlık, suluk ve yemlikler ile yeni gelen sürünün kontaminasyonu bakımından büyük risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, kümeslerde yapılacak dezinfeksiyon işlemlerinin, kontaminasyonu önlemede oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Pearson ve ark., 1996; Newell ve Fearnley, 2003).

Berndtson ve ark. (1996a) yaptıkları çalışmada, piliç kümeslerinde havada, toz ve damlacıklarda asılı bulunan *C. jejuni*'nin, diğer kümeslere havalandırma yolu ile bulasabileceğini ortaya koymuştur.

Gelismiş ülkelerin kümes çalışanlarında, asemptomatik portörlüğe rastlanmadığı buna karşılık, gelişmemiş ülkelerde ve epidemiyolojik salgın bölgelerinde bu duruma sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir. Aynı şekilde, kanatlı yetistirciliğinde kullanılan ekipmanlar, ölü kusların tasındığı kasalar ile tartı

33
makinelerinin de, *C. jejuni*'nin bulasma kaynakları arasında yer aldığı bildirilmiştir (Cawthraw ve ark., 2000).

Yabani ve evcil hayvanlar tarafından meydana getirilen kontaminasyon ile ilgili çalışmalarda, rodent dışkılarından, sineklerden, hamam böceklerinden, yabani kuslardan ve kümes çevresindeki sığır ve domuzlardan, *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir (Fernie ve Park, 1977; Giessen ve Bloemberg, 1996; Gregory ve ark., 1997; Craven ve ark., 2000; Slander ve ark., 2002).

1.11.2. Kesimhanelerde meydana gelen kontaminasyon

Avrupa Birliği Bilimsel Komitesinin Halk Sağlığı ve Gıda ile Bulasan Zoonozlarla ilgili yayınladığı raporda, kesimhanelerin diğer gıda işletmelerine göre, gıda güvenliği konusunda daha etkin olması gerektiği vurgulanmıştır (Anon., 2000).

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) ve GMP (Good Management Practices) uygulamaları sonucu, kesimhanelerdeki mevcut riskin belirgin şekilde azaltılabileceği bildirilmektedir (Anon., 2002b). Kesimhanelerde görülen, *Campylobacter* türleri ile kontaminasyon kaynakları Sekil 1.5.'te gösterilmiştir.

Kanatlı kesim prosesinde, *Campylobacter* türleri ile kontaminasyonunun sıklıkla tüy yolma aşamasında şekillendiği ve diğer karkaslara bulasmanın bu aşamada oldukça yoğun şekillendiği kaydedilmiştir (ICMSF., 1998; Keener ve ark., 2004). Kesimhane koşullarına bağlı olarak, kanatlı karkaslarında % 0 ile % 100 arasında değişen izolasyon oranları bildirilmiştir (Oosterom ve ark. 1983; Bryan ve

Doyle, 1995). Kesim, marketlerde satış ve evde hazırlama aşamalarında meydana gelen *Campylobacter* spp. kontaminasyon kaynakları Şekil 1.5.te verilmektedir (Cox ve ark., 2001).

34

Şekil 1.5. Kesimhanelerde kesim, marketlerde satış ve evlerde hazırlama aşamalarında meydana gelen *Campylobacter* kontaminasyon kaynakları (Cox ve ark.,2001).

_sveç’de yapılan bir çalışmada, 100 kanatlının kesim işlemi sırasında boyun derisinin kesilerek alınması, peritoneal boşluğun swapla taranması ve göğüs derisinin kesilerek alınması ile yapılan örneklemelerde sırasıyla % 89, % 93 ve % 75 oranında *C. jejuni* kontaminasyonu bildirilmiştir (Berndtson ve ark., 1992).

Piliç karkaslarının ve paketleme materyallerinin, termofilik *Campylobacter* türleriyle kontaminasyon derecesini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 55 piliç göğüs örneğinin % 82’sinin, paketleme materyalinin % 44’ünün termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu bildirilmiştir (Harrison ve ark., 2001). Berrang ve ark. (2004), termofilik *Campylobacter* spp. içeren piliç bağırsak içerikleriyle, piliç karkaslarını kontamine etmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda, % 0.5 veya daha fazla oranda sulandırılmış dışkı ile kontamine edilen karkaslarda, ortalama $3.3 \log_{10}$ kob/ml termofilik *Campylobacter* kontaminasyonu bulunduğunu bildirmişlerdir.

Pozitif broyler Negatif broyler
Broyler sürülerinde prevalans (% 0-100)
Marketler
Ev Kosulu
Haslama Tankı
Tüy Yolma
_çorgan Çıkartma
Yıkama+sogutma
Paketleme
Pozitif sürüden
sonra
Pozitif sürü
_le aradaki
zaman
Toplam
Çapraz
Kont.
Dondurulmuş Sogutulmuş
Satışa sunulma
Kesimhane
Kesim
_slemi
Paketleme
Satışa sunulma
Eve alınan broylerin toplam yükü

35

Miwa ve ark. (2003) farklı kesim işlemleri uygulanan farklı kümeslere ait piliç karkasları ve dışkılarındaki, *C. jejuni* prevalansını inceledikleri çalışmalarında, kesimden önce *C. jejuni* bakımından negatif olduğu saptanan sürülerin dışkı ve karkaslarından, kesim sırasına göre farklı düzeylerde *C. jejuni* izole edildiğini rapor etmişlerdir. Çalışmada, *C. jejuni* bakımından pozitif sürünün önce kesilmesinin, daha sonra kesime alınan sürülerdeki *C. jejuni* prevalansını etkileyeceği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Rivoval ve ark. da (1999) pozitif sürülerle birlikte kesime alınan, negatif sürülerin kontamine olduğunu kaydetmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2004) iki farklı kanatlı kesimhanesinden, kesim işleminin başlangıç ve bitiş aşamasına yakın zamanda aldıkları toplam 528 örneğin, 79’unun (% 14.9) *C. jejuni* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir.

1.11.3. _leri işleme aşamasında kontaminasyon

C. jejuni’nin sadece piliç karkaslarından değil ekipmanlardan, havadan ve işleme yüzeylerinden de izole edildiği, çiftlikten masaya gıda güvenliğinde gıdaların parçalanma ve evlerde hazırlanma aşamalarının, kontaminasyon açısından kritik

noktalar olduğu vurgulanmıştır (Butzler, 2004). Hazırlama aşamasındaki kontaminasyon kaynakları Şekil 1.6.'da gösterilmiştir.

De Boer ve Hahne (1990), çiğ piliç hazırlanan 76 yüzeyin 38'inde (% 50) termofilik *Campylobacter* türlerini saptadıklarını, pisirme sonrası yeniden işlemeye alınan piliçlerin termofilik *Campylobacter* türleriyle, rekontamine olduğunu tespit etmişlerdir.

C. jejuni ile kontamine ürünlerin, çapraz kontaminasyona neden olduğu ve piliç etinden akan sıvıyla temas eden bıçaktan, doğrama tahtasından, lavabo ve bulaşık süngerinden *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir (Cogan ve ark., 1999).

36

Sekil 1.6. Piliç eti hazırlama aşamasındaki kontaminasyon kaynakları (Butzler, 2004).

C. jejuni'nin bulduğu yüzeylerde canlı kalma süresinin ve çapraz kontaminasyonların araştırıldığı bir çalışmada işlem öncesi, işlem sırası ve işlem sonunda; 0. dakikada, 30. dakikada ve 120. dakikada polypropilen kesme yüzeyinden, personelin eldivenlerinden, bıçaklardan, çalışma tezgahlarından, paketleme yüzeylerinden ve paketleme ekipmanlarından alınan örnekler ve kontaminasyon oranları Çizelge 1.9.'da gösterilmiştir (Cools ve ark., 2005). Benzer bir çalışmada, Ramabu ve ark. (2004) parçalama ve kesim işlemlerinin yapıldığı yüzeylerde meydana gelen kesik ve çiziklerin, *C. jejuni* bakımından önemli kontaminasyon alanları olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 1.9. Kesim prosesinin ileri işleme aşamasında, çeşitli yüzeylerin örnekleme zamanına bağlı olarak, *C. jejuni* ile kontaminasyonu (Cools ve ark., 2005).

Örnekleme zamanına bağlı kontaminasyon yüzdesi

Örnek yüzeyi 0. dakika (%) 30. dakika (%) 120. dakika (%)

Polypropilen kesme yüzeyi 0 33 62

Personelin eldivenleri 0 35 91

Bıçaklar 0 52 100

Çalışma tezgahları 0 100 100

Paketleme ekipmanları 0 0 22

Hazırlayan kişinin hijyenik durumu
piliç üzerindeki patojen bakteri sayısı (N)
Doğrama tahtasının üzerindeki bakteri sayısı
Hazırlanan diğer ürünlerde çapraz kontaminasyon
Tüketicinin yaş, cinsiyet ve bağışıklık durumu
Tüketilen miktar
Porsiyonda canlı bakteri sayısı
piliç tüketimine bağlı meydana gelen insan infeksiyonları

R

S

K

Y

O

K

Doğrama tahtasının yıkanması
Çapraz Kont.

Patojenlerin

1.12. *Campylobacter* infeksiyonlarının epidemiyolojisi

C. jejuni infeksiyonlarının gıda infeksiyonları arasında ilk sıralarda yer aldığı bildirilmiştir (Ketley, 1997; Altekruze ve ark., 1999; Parkhill ve ark.; 2000; Jofensen ve ark., 2003; Newell ve Fearnley, 2003). Yirminci yüzyılın son yirmi yılında kaydedilen yüksek campylobacteriosis insidensinin değişen beslenme alışkanlıkları, yaygın uluslar arası turizm ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. İzolasyon ve identifikasyon metotlarındaki gelişimin de, infeksiyon etkeninin belirlenmesi bakımından kolaylık sağladığı kaydedilmiştir. *C. jejuni*'den kaynaklanan gastroenteritlerin daha çok sporadik olgular şeklinde ortaya çıktığı, bunun yanı sıra konakçı ve patojene bağlı birçok faktörün rol oynadığı ortaya konulmuştur (Altekruze ve ark., 1999; Jofensen ve ark., 2003).

Termofilik *Campylobacter* türlerinin gıdada çoğalmadıkları, buna rağmen meydana gelen kontaminasyonlar nedeniyle, gıdalarda minimal infeksiyon dozuna ulaşabildikleri bildirilmiştir (Weber, 2000). Campylobacteriosis yaz aylarında daha fazla görülme nedeni, etkenin mevsim şartlarına uyumuna, değişen beslenme alışkanlıklarına, kus göçlerine ve turistik seyahatlere bağlanmaktadır (Trachoo, 2003). Turistlerde meydana gelen yolculuk diyarelerinde *C. coli*'nin, *C. jejuni*'den daha sık izole edildiği rapor edilmektedir (Altekruze ve ark., 1999). *C. jejuni*'nin çiftlik hayvanları ve insanlara bulaşma kaynakları Şekil 1.7.'de gösterilmiştir (Baker ve ark., 2002).

Şekil 1.7. *C. jejuni*'nin çiftlik hayvanları ve insanlara bulaşma kaynakları (Baker ve ark., 2002).

Gıda işleme
Gıda dağıtım
Gıda hazırlama
Tüketim
_nsan popülasyonları
Dışkı
Su arıtma tesisleri
_slenmiş
_çme suları
Yem
hazırlanması
Tüketim
Dışkı
Doğal sular
Barajlar
Yabani
Hayvan
Hayvan popülasyonları
_slenmiş içme suyu
Su aktivite alanları
_slenmiş içme suyu

Campylobacteriosis, _rlanda'da özellikle bir yaşın altındaki çocuklarda yüksek insidensle (% 92) seyrettiği, 20-34 yaş arasındaki bireylerde de yüksek bir insidens (% 50) gösterdiği ve infeksiyona erkeklerin kadınlardan daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Foley ve McKeown, 2001). Campylobacteriosis'in yaş ve cinsiyete göre dağılımı Şekil 1.8'de belirtilmiştir.

0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
insidens (%)
0-4 yaş 5-9 yaş 10-14 yaş
15-19 yaş
20-24 yaş
25-34 yaş
35-44 yaş
45-54 yaş
55-64 yaş
65 yaş ve üstü
Yaş Grupları
Erkek
Kadın

Sekil 1.8. Campylobacteriosisün yas ve cinsiyete göre insidensi (Foley ve McKeown, 2001). *Campylobacter* infeksiyonlarından etkilenen yas grubunun, beslenme alışkanlığı, bağısıklık durumu, predominant mikroflorası ve temizlik alışkanlığı infeksiyona yakalanma riskini etkileyen faktörlerdendir (Coker ve ark. 2002). Dünyada, yıllık ortalama 10 milyon kişinin campylobacteriosis'e yakalandığı, bunun % 25'inin Avrupa Birliği ülkelerinde, % 20'sinin Amerika Birlesik Devletleri'nde, % 5'inin ise Avustralya, Yeni Zelanda ve Japonya gibi Okyanus ötesi ülkeler de yasadığı bildirilmektedir (Anon, 2005). Dünyada 1980-1990 yılları arasında bildirilen, *C. jejuni*'nin sebep olduğu bazı salgınlar, Çizelge 1.10.'da gösterilmiştir (Altekruse ve ark.,1999).

39

Çizelge 1.10. 1980-1990 yılları arasında bildirilen, *C. jejuni*'nin sebep olduğu bazı salgınlar (Altekruse ve ark. 1999).

Olgu

sayısı

Kontrol edilen

olgu sayısı

Tarih Yer Gıda

52 103 1989-1990 Norveç Piliç sosisi

218 526 1982-1983 A.B.D. Az pismis piliç eti

29 42 1990 İngiltere Siselenmiş süt

45 45 1983-1984 A.B.D. Piliç eti

53 106 1982-1983 A.B.D. Çiğ süt

40 80 1981 A.B.D. Su, çiğ süt, az pismis piliç

54 54 1982 Hollanda Mangalda pisen piliç, domuzeti

10 15 1982 A.B.D. Piliç

55 14 1980 A.B.D. Piliç

İngiltere ve Galler'de 1992 ve 1994 yılları arasında toplam 21 salgının meydana geldiği, bu salgınların 6'sının sudan, 3'ünün çiğ süttten, 3'ünün kanatlı etinden, 2'sinin pastörize süttten, 1'inin pateden ve 1'inin et ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Frost, 2001). Aynı şekilde, İngiltere'de sporadik olarak sekillenen *Campylobacter* infeksiyonlarında risk faktörleri arasında, kanatlı eti ve ürünlerinin, kırmızı et ve ürünlerinin, evcil hayvanlarla temasın, pastörize edilmemiş süt tüketiminin, artırılmamış ve eglence alanlarında bulunan suların yer aldığı kaydedilmiştir (Sopwith ve ark., 2003). Amerika Birlesik Devletleri'nde, 1985-2002 yılları arasında ortaya çıkan campylobacteriosis salgınlarındaki sorumlu gıdaların, öncelikle çiğ süt ve piliç eti olduğu belirtilmiştir. Bu tarihler arasında bildirilen salgınlar Çizelge 1.11.'de gösterilmiştir (Anon, 2003a).

40

Çizelge 1.11. Amerika Birlesik Devletleri'nde 1985-2002 arasında, *C. jejuni*'ye bağlı bildirilen salgınlar (Anon, 2003a).

Olgu sayısı Tarih Gıda

200 2002 Tanımlanamamıştır

30 2002 Tanımlanamamıştır

38 2002 Tanımlanamamıştır

87 1997 Tanımlanamamıştır

39 1997 Piliç eti

70 1996 Piliçli salata

82 1995 Ton balığı salatası

17 1994 Piliçli salata

62 1994 Meyve salatası

48 1993 Kavun ve çilek

50 1992 Çiğ süt

34 1992 Makarna salatası

23 1992 Çiğ süt
20 1991 Soğuk piliç eti
10 1991 Piliç eti
42 1990 Çiğ süt
13 1990 Çiğ süt
23 1985 Çiğ süt

Gelismekte olan ülkelerde, hastalık izleme ve kayıt sistemlerinin eksikliğine bağlı olarak, toplumun ne kadarının campylobacteriosis ten etkilendiğini ortaya koymak oldukça zordur. Dünya Sağlık Örgütü, gelismekte olan ülkelerde 5 yaş altındaki çocuklarda, diyare etkenlerini tanımlamak üzere yaptığı tarama çalışmalarında, toplanan gaita örneklerinden izolasyon oranlarının sırasıyla; Fas'ta % 17.7; Kamerun'da % 7.7, Etiyopya'da % 13.8, Nijerya'da % 16.5, Tanzanya'da % 18.0, Zimbabve'de % 9.3, Mısır'da % 9.0, Ürdün'de % 5.5, Banglades'de % 17.4, Tayland'da % 13.0, Laos Adaları'nda % 12.1 olduğunu bildirmiştir (Coker ve ark., 2002). Dünya Sağlık Örgütü'nün 7. ve 8. enfeksiyon raporlarında Türkiye'deki *C. jejuni* enfeksiyon oranı % 0 olarak bildirilmiştir. Bunun nedeni ise, ülke çapında

41

izleme programlarının bulunmamasına ve hastanelerde uygulanan izolasyon ve identifikasyon testlerindeki yetersizliğe bağlanmıştır (Anon, 2002b).

1.13. Korunma ve Kontrol

Avrupa Birliği'nin 1999/72/EC sayılı Zoonozlar Direktifi uyarınca, üye ülkelerde meydana gelen campylobacteriosis olgularının, yıllık raporlar halinde bildirilmesi zorunlu kılınmıştır. Bu raporların hazırlanmasında, bölgesel halk sağlığı bürolarındaki beseri hekimlerin, veteriner hekimlerin, halk sağlığı ve çevre sağlığı personellerinin ortak çalışmaları bildirilmiştir (Anon, 2000).

C. jejuni'den kaynaklanan kontaminasyonların önlenmesinde, çiftlikte alınacak tedbirlerin oldukça etkili olacağı düşünülmektedir (Newell ve Fearnley, 2003). Sağlıklı anaç sürülerden elde edilen sağlıklı civcivlere *C. jejuni*'nin yem, su, rodent, insekt, personel ve kullanılan çeşitli ekipmanlarla bulaşabileceği ve bunun önlenmesi gerektiği kaydedilmiştir. Bu amaçla yarısmaıcı bakterilerin barsağa kolonizasyonunun sağlanmasının (Competitive Exclusion) yanı sıra, İyi Üretim Uygulamaları ile (Good Manufacturing Practices- GMP) Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri (Hazard Analysis and Critical Control Points-HACCP) sistemlerinin uygulamaya geçirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Hakkinen ve Schneitz, 1999.; Corry ve Atabay, 2001; Newell ve Fearnley, 2003).

Kesimhanelerde meydana gelen kontaminasyonların mevcut sistemde kaçınılmaz olduğu bu nedenle, kesim işleminin tüm aşamalarında kontaminasyonun önlenmesi gerektiği kaydedilmiştir (Erol, 1999; Altekruze ve Tollefson, 2003; Savaşçı, 2005). *C. jejuni* ile ilgili kesimhanelerde yapılan çalışmaların daha çok mevcut kontaminasyonların azaltılmasına yönelik olduğu belirtilmiştir (Hwang ve Beuchat, 1995; Altekruze ve ark., 1999; Corry ve Atabay, 2001; Altekruze ve Tollefson, 2003; Purnell ve ark., 2004; Ozdemir ve ark., 2005).

Kanatlı eti ve ürünlerinin üretimi sırasında meydana gelecek çapraz kontaminasyonların önlenmesi bakımından, kesim hijyeni ve personel hijyeninin

42

önemli olduğu bildirilmiştir. Buna ilaveten, süt ve su kaynaklı campylobacteriosis olgularının önlenmesinde, pastörize süt tüketimi ile islenmiş su tüketiminin önemli olduğu, evcil ve pet hayvanlarla temastan kaçınılması gerektiği kaydedilmiştir (Erol, 1999).

Bu çalışmada, piliç kesimhanelerinde yeni kesilmiş piliç karkaslarından

alınan piliç boyun derileri ve bağırsak içeriği ile piliçlerin kesimhaneye getirildiği kümeslerden alınan yem ve su örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerini kültür tekniği ile belirleyerek, *C. jejuni* olarak saptanan susların, PCR tekniği ile doğrulanması amaçlanmıştır.

43

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışma iki asamadan oluşmuştur. Çalışmanın birinci asamasında, örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı klasik kültür tekniği ile belirlenmiş, ikinci asamasında ise klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen izolatların, PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla, çalışmanın birinci asamasında farklı 2 piliç kesimhanesinden kesim işleminin iç organ çıkartma işlemi sonrası alınan, toplam 160 adet piliç boyun derisi, aynı piliçlere ait 160 bağırsak içeriği ile piliçlerin kesime geldiği kümeslerden alınan 32'şer adet yem ve su örnekleri olmak üzere toplam 384 örnekte, klasik kültür tekniği kullanılarak termofilik *Campylobacter*'lerin varlığı araştırılmıştır.

Çalışmada mevsimsel farklılığın etkisini belirlemek amacıyla örnekler sıcak aylar (mayıs, haziran, temmuz, agustos) ile soğuk aylarda (kasım, aralık, ocak, subat) alınmıştır. Bu amaçla piliç kesimhanelerine belirlenen aylarda 2'şer kez gidilerek, farklı 8 aylık dönem içerisinde her bir gidiste 10 boyun derisi, 10 bağırsak içeriği ile 2'şer adet yem ve su örnekleri alınmıştır. İletmelerin laboratuvara uzaklığı bakımından A işletmesinden alınan örnekler alındıktan yaklaşık 30-40 dakika sonra analize alınırken, B işletmesinden alınan örneklerin laboratuvar analizleri yaklaşık 150-180 dakika sonra yapılmıştır. Piliç kesimhanelerinden A işletmesinin günlük kesim kapasitesi yaklaşık 10.000-15.000 düzeyinde olmasına karşın, B işletmesinin günlük kesim kapasitesi yaklaşık 100.000-120.000 düzeyinde bulunmaktaydı. Her iki işletmede haslama tankı sularının sıcaklık derecesi yaklaşık 51.5-52.5 °C düzeyinde bulunurken, piliçlerin haslama tankından geçiş süreleri 2.5-3 dakika arasında değişiklik göstermekteydi. Yine B işletmesinde, kloaka açma ve iç organ çıkartma işlemleri otomatize makinelerle yapılmasına karşın, A işletmesinde bu işlemler manuel olarak çalışanlar vasıtasıyla yapılmaktaydı.

44

2.1.1. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasallar

Preston Brot

Nutrient Brot (No: 2, Oxoid CM 67) hazır besiyerinden 12.5 g tartılarak 500 ml distile su içerisinde çözdürülmüş ve pH-değeri 7.5'e ayarlanmıştır. Bunu takiben, besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Bu sıcaklık derecesinde besiyeri üzerine, 25 ml hazır % 5'lik steril lysed horse blood (Oxoid SR 048) ile 2 ml steril distile suda eritilen *Campylobacter* growth supplement (Oxoid SR 084E) ve 2 ml 1/1 oranında aseton distile su kısmında eritilen *Campylobacter* selective supplement (Oxoid SR 0117E) ilave edilmiştir.

Campylobacter Growth Supplement (Oxoid SR 084E)

Vial içeriği (her bir vial 500 ml besiyeri için standart olarak hazırlanmıştır)

Sodium pyruvate 0.125 g

Sodium metabisulphite 0.125 g

Ferrous sulphate 0.125 g

Preston *Campylobacter* Selective Supplement (Oxoid SR 0117E)

Vial içeriği (her bir vial 500 ml besiyeri için standart olarak hazırlanmıştır)

Polymyxin B 2500 _U

Rifampicin 5.0 mg

Trimethoprim 5.0 mg

Cycloheximide 50.0 mg

Laked Horse Blood (Oxoid SR 048)

45

Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (CCDA, Oxoid CM739)

Hazır besiyerinden 22.75 g tartılarak, 500 ml distile su içerisinde çözündürülüp sıcak su banyosu içinde tamamen eritilmiştir. Bunu takiben, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilen besiyeri 50°C'ye kadar sogutulmuştur. Bu sıcaklık derecesinde besiyeri üzerine, 2 ml steril distile suda eritilen supplement (Oxoid SR 155E) ilave edilerek karıştırılmış ve steril petrilere dökülmüştür.

CCDA Selektif Supplement (Oxoid SR155E)

Cefoperazone 16mg/vial

Amphotericin B 5mg/vial

Columbia Blood Agar Base (Oxoid CM 331)

Hazır besiyerinden 39 g tartılarak, 1 litre distile suda çözdürülmüş ve sıcak su banyosunda tamamen eritilmiştir. Besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek, 50°C'ye kadar sogutulmuş ve bu sıcaklık derecesinde üzerine % 5 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edilip, steril petrilere dökülmüştür.

Triple Sugar Iron Agar (Oxoid CM 277)

Hazır besiyerinden 65 g tartılarak, 1 litre distile su içerisinde çözündürülüp pH'sı 7.4'e ayarlanmış, kaynar su banyosunda 5-10 dakika tutularak ve sürekli karıştırılarak besiyerinin iyice erimesi sağlanmıştır. Besiyeri sıvı halde iken tüplere 7-8 ml olacak şekilde dağıtılmış ve 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvı iken, tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuga yatırılmıştır.

Müller- Hinton Agar (Oxoid CM 337)

Bu hazır besiyerinden 38 g alınarak, 1 litre distile suda çözdürülmüş ve sıcak su banyosunda tamamen eritilmiştir. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C'ye kadar sogutulmuş ve üzerine % 5'lik steril defibrine koyun kanı ilave edilmiştir. Besiyeri steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır.

46

Brucella Brot (Sigma Lot 108H0726)

Toz besiyerinden 14.05 g tartılarak, 500 ml distile suda çözdürülmüş ve pH 7.2'ye ayarlanarak tüplere 1 ml olacak şekilde paylaştırılarak, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

Katalaz Test

Katalaz test, %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck 8597) ile yapılmıştır.

CampyGen Oxoid CN 025A- CN 0035A

Su ilavesine gereksinim duymayan ve 2.5-3.5 L'lik anaerobik jarlar için özel olan ticari kitler (Oxoid CN 035A, Oxoid CN 025A,) kullanılmıştır.

Membran filtreler

50 mm çapında ve 0.22 µm por çapına sahip membran filtreleri (Millex, GV SLGV025LS) kullanılmıştır.

Oksidaz Test Kiti

Oxydase Identification Stics kullanılmıştır (Oxoid, BR 64).

Antibiyotik diskleri

30 mikrogram sefalotin (Oxoid, CT 010) ve 30 mikrogram nalidiksik asit (Oxoid, CT 031) içeren diskler kullanılmıştır.

47

Hippurat test

Phosphate Buffered Saline (PBS, Oxoid BR 0014G, pH 7.3±0.2) solüsyonu içinde hazırlanan % 1'lik Na-hippurat solüsyonu filtre edilerek sterilize edilmiş ve 0.4'er ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılarak kullanılmıştır. Ninhidrin solüsyonu (% 3.5, 50:50 Aseton:butanol içinde) hazırlanarak kullanılmıştır.

Sodyum Hippurat Solüsyonu

Sodyum hippurat : 10 g

PBS Solüsyonu _çerigi

Sodyum klorit 8.5 g

Disodyum hidrojen fosfat dihidrat: 8.98 g

Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat: 2.71 g

Distile su 1000 ml

Ninhidrin solüsyonu

Ninhidrin % 3.5

Aseton 50 ml

Butanol 50 ml

Referans Sus

Bu çalışmada, referans sus olarak *Campylobacter jejuni* (ATCC 33291, Oxoid) kullanılmıştır.

PCR tekniği ile doğrulamada kullanılan malzemeler

Taq DNA polymerase

Taq DNA polymerase toplam 500µl hacim içerisinde 250U etken madde olacak şekilde kullanıma hazır preparat olarak temin edilmiştir. Aynı şekilde, toplam 3 ml hacimde yoğunluğu 25 mM MgCl₂ ve 3 ml hacimde hazırlanmış 10x PCR Buffer preparatları da sağlanmıştır (Heliosis).

48

dNTP Mix

dNTP miks ise 0.5 ml hacimde 100 mM yoğunlukta dATP, dCTP, dGTP, dTTP içeren preparat halinde hazır temin edilmiştir (Heliosis).

DNA Ladder

DNA Ladder, 100bp, SM0321, 0.05mg/ml yoğunlukta ve 6x yükleme boyası içermektedir (Fermentas).

Primer Çifti

Gonzales ve ark. (1997) tarafından bildirilen iki primer HPLC saflıkta sentezletilmiştir (Metabion). Buna göre toplam 43 baz içermekte olup, liyofilize olarak temin edilmiş ve sentez kagıtında önerilen miktarlarda steril bidistile su ile sulandırılmıştır.

JEJ1:5'CCTGCTACGGTGAAAGTTTTGC'3

JEJ2:5'GATCTTTTTGTTTTGTGCTGC'3

TBE solüsyonu

Hazırlanırken 54 g Tris-Hydroxymethylaminoethane (Merck, 1.01549.0500), 27.8 g Borik Asit (Merck 1.12015.0500) ve 2.9 g Titriplex II (Merck, 1.08417.0250) 1 l distile suda çözündürülmüştür ve stok solüsyon elde edilmiştir. Stok solüsyondan alınan 200 ml, distile su ile 1l tamamlanarak 1xTBE elde edilmiştir.

Ethidium Bromide

Firmadan 10 µg/ml olarak sağlanan stok solüsyon 1:9 oranında sulandırılarak

1 µg/ml konsantrasyonda kullanılmıştır.

Agaroz jel

Agaroz jel (% 1.5) için, 4.5g Agaroz-Basica LE (Prona) ve 300 ml 1xTBE eklenerek mikrodalga fırında 90 saniyede eritilmiş ve donmadan içerisine 300µl Ethidium Bromide (Merck 11608) eklenmiştir.

49

2.2. Yöntem

2.2.1. Boyun Derisi ve Dışkı Örneklerinin Alınması

Piliç boyun derileri, kesim işleminin iç organ çıkartma aşaması sonunda, Uyttendaele ve ark.'nın (1999) bildirdiği yöntemle alınmıştır. Bu amaçla, önceden isaretlenmiş olan piliç karkaslarına ait boyun derileri aseptik koşullarda makasla kesilerek, steril numune poşetleri içerisine ayrı ayrı konularak, soğuk zincir altında analiz amacıyla laboratuvara getirilmiştir. Aynı şekilde, boyun derileri alınan piliç karkaslarına ait bağırsak içeriği örnekleri ise Berndtson ve ark.'nın (1996b) önerdiği swap tekniğine göre alınmıştır. Bu amaçla, steril swap yardımıyla bağırsagın sekum bölümünden alınan örnekler, içerisinde 10 ml Preston selektif zenginleştirme buyyonu bulunan tüplere konularak, soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir.

2.2.2. Yem ve Su Örneklerinin Alınması

Boyun derisi ve bağırsak içeriği örneği alınan piliçlerin, kesime geldiği 16 farklı kümesin yemlikleri (askılı) ile suluklarından (kase ve damlalık tiplerde) yaklaşık 200 g yem örneği ve 200 ml su örneği aseptik koşullarda steril kavanozlar içerisine konularak, soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir. Yem ve su örnekleri kümes hijyeni nedeniyle, işletmenin Veteriner Hekimleri tarafından alınmıştır. Bu kapsamda örneklerin alınması konusunda ilgili Veteriner Hekimler bilgilendirilerek, yükleme öncesi kümeslerde bulunan yemlik ve sulukları temsil edecek şekilde rastgele 2'şer adet örnek alımı sağlanmıştır.

2.2.3. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Alınan tüm örneklerde, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonunda zenginleştirme işlemine dayalı ISO (The International Organization for Standardization, 10272) (Anon., 1995) yöntemi kullanılmıştır. Ancak, su örnekleri zenginleştirme işlemi öncesi Miwa ve ark.'nın (2003) önerdiği yöntemle göre işleme tabi tutulmuştur. Bu amaçla laboratuvara getirilen 200 ml su örneğinden, steril santrifüj tüplerine 100 ml alınarak 4000 devirde 30 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. Santrifüj işlemi takiben, süpernatant atılarak dipteki pelet 1 ml 50

PBS içerisinde süspansiyon edilip, içerisinde 10 ml Preston selektif zenginleştirme buyyonu bulunan steril tüplere aktarılmıştır. Yem örnekleri ise Pearson ve ark.'nın (1993) önerdiği yöntemle göre alınmıştır. Bu amaçla kesime gelen piliçlerin kümeslerinden alınan 200 g yem örneğinden 10 g tartılarak, içerisinde 90 ml Preston zenginleştirme buyyonu bulunan steril poşetlere konularak, zenginleştirme işlemi yapılmıştır.

2.2.3.1. Zenginleştirme İsllemi

Alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu amacıyla, ISO yöntemine göre zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Bu amaçla, laboratuvara getirilen örneklerden aseptik koşullarda alınan 10'ar g boyun derisi örnekleri ile 10'ar g yem örnekleri üzerine 90 ml selektif Preston buyyonu ilave edilerek, mikroaerofilik ortamda (Oxoid CN 25, CN 35) 42°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bağırsak içeriği örnekleri ile su örnekleri ise, içerisinde 10'ar ml Preston selektif

buyyonu bulunan tüplerde, aynı kosullarda inkübasyona bırakılarak zenginleştirme işlemi yapılmıştır.

2.2.3.2. Kolonilerin _zolasyonu

Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu amacıyla, zenginleştirme sıvısından 1-2 öze dolusu alınarak CCD Agar'a (Campylobacter Blood-Free Selective Agar, Oxoid CM 739, Suppl. Oxoid SR 155) çizme yöntemine göre ekim yapılmış ve plaklar mikroaerofilik ortamda 42°C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. _nkübasyon sonrası üreme görülmeyen plaklar ise aynı kosullarda, 5. günün sonuna kadar inkübasyonda bırakılmıştır.

Sekil 2.1. CCD agar'da termofilik *Campylobacter* kolonilerinin makroskopik görüntüsü.

51

2.2.3.3. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin _dentifikasyonu

Termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu amacıyla, CCD-Agarda üreyen *Campylobacter* spp. süpheli tipik kolonilerden öze ile 5'er adet alınıp, kanlı agara (Columbia Agar Base, Oxoid CM 331, % 5 koyun kanı) geçildi ve 42°C'de 24 saat süreyle mikroaerofilik ortamda (Oxoid, Campygen CN 25, 35) inkübasyona bırakıldı. _nkübasyon sonrası, kanlı agarda üreyen süpheli kolonilerden alınarak, Gram Boyama, katalaz, oksidaz, hareketlilik ve sodyum hippurat hidroliz testleri yapılmıştır. Aynı zamanda, kanlı agarda üreyen kolonilerden öze ile alınıp içerisinde 1'er ml Brucella Brot bulunan tüplerde bakteri süspansiyonu yapılmıştır. Bu bakteri süspansiyonu, Müeller Hinton Agarda nalidiksik asit ve sefalotin antibiyotik duyarlılık testi ile TSI agarda H₂S olusum testlerinde kullanılmıştır. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyon akıs seması Sekil 2.2.'de gösterilmiştir.

Sekil 2.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyon akıs seması (Anon.,1995).

2.2.3.3.1. Gram Boyama

Kanlı agarda üreyen süpheli kolonilerden öze ile alınıp, Gram boyama yapılmıştır.

Hazırlanan preparat üzerine immersiyon yağı damlatılarak, mikroskopun (YS2-H

Test örneği (x g veya x ml)

+

Preston Brot (9x ml)

mCCDA

Kanlı agar (% 5 koyun kanı)

Hippurat hidrolizi Brucella brot

Müller Hinton Agar

Nalidiksik asit

Sefalotin duyarlılık testi

Gram Boy.

Katalaz

Oksidaz

Hareketlilik

Mikroaerofilik

42 °C 24 h

Mikroaerofilik

42 °C 48-72 h

37 °C

(Su banyosunda) 2 h

25°C' de üreme

Karbonhidrat Fer.

H₂S olusumu

Mikroaerofilik

37 °C 24 h

52

Nikon, Japan) 100'lük objektivinde incelenmiştir. Mikroskopik bakıda Gram negatif, içbukey, virgül veya spiral formda görülen mikroorganizmalar *Campylobacter* spp. olarak değerlendirilmiştir. Gram boyama sonrası *C. jejuni*'ye ait görünüm Sekil

2.3.'de gösterilmiştir.

Sekil 2.3. Gram boyamada termofilik *Campylobacter* türlerinin mikroskopik görüntüsü

2.2.3.3.2. Katalaz Testi

Katalaz testi amacıyla, öze yardımıyla kanlı agardan alınan bakteri kolonisi, lam üzerinde bir öze dolusu % 3'lük H₂O₂ solüsyonu ile karıştırılmıştır. Karışımı takiben, 1-2 saniye içerisinde gaz kabarcıklarının oluşumu, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

2.2.3.3.3. Oksidaz Testi

Oksidaz testi, bu amaçla hazırlanmış hazır test kitleri (Oxoid BR 64A) kullanılarak yapılmıştır. Bunun için, test edilecek süpheli kolonilerden öze ile alınarak oksidaz sticklere sürülmüştür. Bunu takiben, 10-20 sn'de görülen menekse- mor renk, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

Sekil 2.4. Termofilik *Campylobacter* türlerinin oksidaz test sonucu
53

2.2.3.3.4. Hareketlilik Testi

Hareketlilik muayenesi için öncelikle, kanlı agarda üreyen test edilecek süpheli kolonilerden öze ile alınarak lamın üzerinde fizyolojik tuzlu su ile süspanse edilmiştir. Bunu takiben hazırlanan preparat, faz kontrast mikroskopta 100'lük immersion objektivinde incelenmiştir. Mikroskopik bakıda, hızlı ve spiral formda hareketlilik pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

2.2.3.3.5. Hippurat Hidroliz Testi

Hippurat hidroliz testi için, taze olarak sodyum hippurat çözeltisi hazırlanarak steril tüplere 0.4'er ml dağıtılmıştır. Bunu takiben, kanlı agarda üreyen test edilecek kolonilerden bir öze dolusu alınarak, sodyum hippurat çözeltisi ile karıştırılmış ve su banyosunda 37°C'de 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. _nkübasyonu takiben, yeni hazırlanmış ninhidrin ayırıcından 0.2 ml tüpün iç yüzeyinden sodyum hippurat çözeltisinin üzerine ilave edilmiştir. Tüplerde 10 dakika içerisinde oluşan koyu mavi renk pozitif, açık mavi ya da renk değişimi oluşmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

Sekil 2.5. Hippurat hidrolizi testi

2.2.3.3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Test edilecek süpheli kolonilerin, antibiyotik duyarlılık testleri Müeller Hinton Agar'da (Oxoid CM377, % 5 koyun kanı) yapılmıştır. Bu amaçla, test edilecek kolonilerin kanlı agarda üreyen bakteri kolonisinden 1-2 öze dolusu alınarak, içerisinde 1 ml Brucella Brot bulunan tüplerde bakteri süspanسیونu hazırlanmıştır. Bunu takiben, bakteri süspanسیونlarından 0.1 ml alınarak Müeller Hinton Agar'a

- +

54

yayma plak metodu ile ekilmiştir. Plaklar 37°C'de 10 dakika kurutulduktan sonra, plakların belirli bir bölgesine Nalidiksik asit (30 µg), diğer bölümüne sefalotin (30µg) içeren antibiyotik diskleri konularak, 37°C'de 24 saat süreyle mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakılmıştır. _nkübasyonu takiben, disklerin etrafında 0.6 mm ve daha geniş çapta zon oluşumu etkenlerin duyarlı, zon oluşmaması veya daha küçük zon oluşması ise etkenlerin dirençli olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Sekil 2.6. Müeller Hinton Agar'da antibiyotik duyarlılık testi

2.2.3.3.7. Karbonhidrat Fermentasyon Testleri, H₂S Oluşumu ve 25°C'de

Üreme

Test edilecek süpheli kolonilerin karbonhidrat fermentasyon testleri ile H₂S oluşturma yetenekleri, Triple Sugar Iron Agar'da (Oxoid CM277) test edilmiştir. Bu amaçla, 1 ml Brucella Brot içerisinde hazırlanmış olan bakteri süspanسیونundan 1 öze dolusu alınıp, yatık olarak hazırlanmış olan TSI agara inokule edilmiştir.

_nokulasyonu takiben, tüpler mikroaerofilik ortamda 37°C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. _nkübasyon sonrası, renk değişiminin oluşmaması *C. jejuni* yönünden pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

a. b.

Sekil 2.7. Triple Sugar Iron Agar’da karbonhidrat fermentasyon ve H₂S oluşumu Testi. Ekim öncesi görünüm (a), ekim sonrası görünüm (b)

Nalidiksik Asit
Nalidiksik Asit
Sefalotin
Sefalotin
Zon
Pozitif kontrol *C. jejuni*
Pozitif *C. jejuni*
veya *C.coli*

55

Termofilik *Campylobacter* türlerinin 25°C’de üreme yeteneğinin saptanması amacıyla Brucella Brot’daki bakteri süspansiyonundan 1-2 öze dolusu alınıp, kanlı agara çizilerek, 25°C’de 2-5 gün süreyle mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakılmış ve üreme yönünden incelenmiştir. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan testler Çizelge 2.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılan testler (Anon., 1995).

Karakteristikler *C. jejuni* *C. coli* *C. lari* *C. upsaliensis*

Hippurat Hidrolizi + - - -

H₂S üretimi - + veya zayıf - -

Karbonhidrat ferm. - - - -

25°C’de üreme - - - -

Nalidiksik asit Duyarlı Duyarlı Dirençli Duyarlı

Sefalotin Dirençli Dirençli Dirençli Duyarlı

Katalaz + + + - veya zayıf

Oksidaz + + + +

2.2.3.4. *C. jejuni* Suslarının Dondurulması

Kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak identifiye edilen suslar, PCR tekniği ile doğrulanmak amacıyla -70 °C’de muhafaza edilmiştir. Bu amaçla, Brucella brot içerisinde süspansiyon edilen suslar, Gorman ve Adley (2004) tarafından önerilen metoda göre % 20 gliserol eklenerek cryobanklar içerisinde -70°C’ye kaldırılmıştır.

2.2.3.5. *C. jejuni* Suslarının Çözdürülmesi

PCR tekniği ile doğrulanmak amacıyla -70°C’de cryobanklarda muhafaza edilen suslar, kullanılacakları gün içerisinde kırılmış buz bulunan kaplar içerisine yerleştirilerek, +4°C’de çözünmeleri sağlanmıştır.

2.2.3.6. PCR Tekniği ile *C. jejuni* Suslarının Doğrulanması

Bu çalışmanın ikinci aşamasında, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen susların PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla, -70°C’de muhafaza edilen suslar çözündürüldükten sonra, 1-2 öze dolusu CCD agara geçilerek, 42°C’de 24-48 saat süreyle mikroaerofilik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. _nkübasyon sonrası CCD agarda üreyen kolonilerden alınarak, 1 ml steril bidistile su içerisinde süspansiyon edilip, 95°C’de 10 dakika süreyle su banyosunda (Mermert WB/OB 7-45, WBU 45) tutulmuştur. Su banyosundan çıkartılan örnekler, 4°C’de 10.000 rpm’de

56 (Eppendorf Centrifuge 5417R) 5 dakika santrifüj edilerek DNA ekstraksiyonu sağlanmıştır.

2.2.3.6.1. PCR Tekniği

PCR koşullarının optimizasyonunu takiben, Gonzales ve ark. (1997) tarafından önerilen protokol gereği, *ceuE* gen sekansını oluşturan primer çiftleri (Metabion) kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır.

Bu amaçla, Gonzales ve ark.’nın (1997) önerdiği protokol gereği toplam 25 µl

hacimde optimum konsantrasyonlar su şekilde kullanılmıştır: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM deoksiribonükleotid karışımı, 1 µM her bir primerden, 0.5 U Taq polymerase (Metis). Tüm karışım bir ependorf tüpe konularak, üzerine 2 µl DNA örneği ilave edilerek mineral yağ ile kapatılmıştır. Örnekler thermal cycler'da (Biometra Personal Cycler) 30 döngü geçirecek biçimde tutulmuştur. Thermal Cycler'da 94 °C'de 30 saniye, 57 °C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika, 94 °C'de 3 dakika ve son asamada 72 °C'de 5 dakika tutulduktan sonra örnekler 4°C'de muhafaza edilmiştir. Bunu takiben PCR amplifikasyon ürünlerinden 10 µl alınarak, 2 µl phicol brom phenol blue ile boyanmıştır. Elektroforez (Biometra Agagel Maxi, B15359) işlemi, 1 µl/ml ethidium bromide içeren % 1.5 agaroz jelde, 100 Volt altında (Biometra Powerpack P25) 1 saat yürütülerek yapılmıştır. Daha sonra agaroz jel transilüminatöre (Biometra TI1 UV) transfer edilerek, DNA Marker yardımıyla *ceuE*'nin 793 bp'lik amplifikasyon ürünleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

2.3. _statistiksel Analizler

Mikrobiyolojik analiz bulguların istatistiksel değerlendirilmesi için Ki Kare Testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS (11.5) istatistik hazır paket programı kullanılmıştır. _statistiksel analizler örneklerden izole edilen *C. jejuni* verileri dikkate alınarak mevsimsel ve işletmeler arasındaki farklılıklar yönünden yapılmıştır (SPSS, versiyon 11.5, Ref. No:9024147)

57

3. BULGULAR

3.1. Klasik kültür tekniği ile örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunusu

Bu çalışmada, 2004 ve 2005 yıllarında sıcak aylar (mayıs, haziran, temmuz, agustos) ve soğuk aylarda (kasım, aralık, ocak, subat) iki farklı piliç kesimhanesinden alınan toplam 384 örnekte (160 adet piliç boyun derisi, 160 adet piliç bağırsak içeriği, 32 adet su ve 32 adet yem örneği) klasik kültür tekniği kullanılarak termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığının belirlenmesi ile klasik kültür tekniğine göre *C. jejuni* olarak belirlenen izolatlarının PCR tekniği ile doğrulanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, alınan toplam 384 örneğin 248'inin (% 64.58) kültür yönteminde termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu ortaya konmuştur. Alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımı incelendiğinde, 160 boyun derisi örneğinin 138'inin (% 86.25), 160 bağırsak içeriği örneğinin 106'sının (% 66.25) ve 32 su örneğinin 4'ünün (% 12.50) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Alınan 32 adet yem örneğinin hiçbirinde (% 0) ise termofilik *Campylobacter* türleri bulunamamıştır.

C. jejuni ise alınan toplam 384 örneğin 207'sinde (% 52.34) saptanmıştır.

Aynı şekilde, *C. jejuni*'nin örnek bazında dağılımı incelendiğinde 160 boyun derisi örneğinin 122'sinin (% 76.25), 160 bağırsak içeriği örneğinin 82'sinin (% 51.25) ve 32 su örneğinin 3'ünün (% 9.38) *C. jejuni* ile kontamine olduğu belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında alınan tüm örneklerde, termofilik *Campylobacter* türleri ile *C. jejuni*'nin dağılımına ilişkin sonuçlar Çizelge 3.1. ve Sekil 3.1.'de gösterilmiştir.

58

Çizelge 3.1. Örneklerde termofilik *Campylobacter* spp. ve *C. jejuni*'nin bulunusu

Örnek tipi Termofilik *Campylobacter* spp.

Pozitif örnek sayısı/incelenen örnek sayısı (% pozitif)

C. jejuni

Pozitif örnek sayısı/incelenen örnek

sayısı (% pozitif)

Piliç boyun derisi 138/160 (% 86.25) 122/160 (% 76.25)

Bagırsak içeriği 106/160 (% 66.25) 82/160 (% 51.25)

Su 4/32 (% 12.50) 3/32 (% 9.38)

Yem 0/32 (% 0.0) 0/32 (% 0.0)

Toplam 248/384 (% 64.58) 207/384 (% 52.34)

0

10

20

30

40

50

60

70

80

90

Boyun Derisi Bagırsak

içeriği

Su Yem

Termofilik

Campylobacter spp.

C. jejuni

Sekil 3.1. Örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

Bu çalışmada, örnekler iki farklı piliç kesimhanesinden alınmıştır. Bu çerçevede A işletmesinden alınan 80 boyun derisi örneğinin 72'sinin (% 90.00), 80 bagırsak içeriği örneğinin 58'inin (% 72.50) ve kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin 2'sinin (% 12.50) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde A işletmesinden alınan 80 boyun derisi örneğinin 64'ünde (% 80), 80 bagırsak içeriği örneğinin 50'sinde (% 62.50) ve suluklardan alınan 16 su örneğinin 1'inde (% 6.25) *C. jejuni* kontaminasyonu tespit edilmiştir.

Buna ilaveten, B işletmesinden alınan 80 boyun derisi örneğinin 66'sının (% 82.50), 80 bagırsak içeriği örneğinin 48'inin (% 60.00), kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin 2'sinin (% 12.50) termofilik *Campylobacter* türleri ile

kontamine olduğu ortaya konmuştur. Benzer şekilde B işletmesinden alınan 80 boyun derisi örneğinin 58'inde (% 72.50), 80 bagırsak içeriği örneğinin 32'sinde (% 40.00) ve suluklardan alınan 16 su örneğinin 2'sinde (% 12.50) *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmıştır. A ve B işletmesine ait bulgular Çizelge 3.2. ve Sekil 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. A ve B işletmesinden alınan örneklerde, termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

A işletmesi B işletmesi

Pozitif örnek sayısı/incelenen örnek sayısı (% pozitif)

Örnek tipi Termofilik

Campylobacter spp.

C. jejuni Termofilik

Campylobacter spp.

C. jejuni

Piliç boyun

derisi

72/80 (% 90) 64/80 (% 80) 66/80 (% 82.50) 58/80 (% 72.50)

Bagırsak

içeriği

58/80 (% 72.50) 50/80 (% 62.50) 48/80 (% 60.00) 32/80 (% 40.0)

Su 2/16 (% 12.50) 1/16 (% 6.25) 2/16 (% 12.50) 2/16 (% 12.50)

Yem 0/16 (% 0.0) 0/16 (% 0.0) 0/16 (% 0.0) 0/16 (% 0.0)

0

10

20

30
40
50
60
70
80
90
Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem
Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem
A _sletmesi B _sletmesi
Termofilik
Campylobacter
spp.
C.jejuni

Sekil 3.2. A ve B isletmesinden alınan örneklerde, termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

60

Bu çalışmada, A isletmesinden alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 115'inin (% 65.34) *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde, B isletmesinden alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 92'sinin (% 52.27) *C. jejuni* ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu kapsamda, A isletmesinden alınan örneklerde *C. jejuni* kontaminasyonu, B isletmesine oranla daha yüksek (% 12.07) düzeyde bulunmuştur (Sekil 3.3.). Nitekim istatistiksel yönden yapılan analizde de isletmeler arasındaki farklılığın önemli olduğu ($P < 0.001$) saptanmıştır.

0
10
20
30
40
50
60
70
A isletmesi B isletmesi
C.jejuni

Sekil 3.3. _ki farklı isletmeye göre, *C. jejuni* bulunus yüzdeleri

Bu çalışmada, mevsimsel farklılığın etkisini belirlemek amacıyla örnekler sıcak aylar (mayıs, haziran, temmuz, agustos) ile soğuk aylarda (kasım, aralık, ocak, subat) alınmıştır. Bu kapsamda sıcak aylarda alınan 80 boyun derisi örneğinin 69'unun (% 86.25), 80 bağırsak içeriği örneğinin 67'sinin (% 83.75) ve kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin 4'ünün (% 25.00) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde sıcak aylarda incelenen 80 adet boyun derisi örneğinin 57'sinde (% 71.25), 80 bağırsak içeriği örneğinin 56'sında (% 70) ve kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin 3'ünde (% 18.75) *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmıştır.

Yine soğuk aylarda alınan 80 boyun derisi örneğinin 69'unun (% 86.25) ve 80 bağırsak içeriği örneğinin 39'unun (% 48.75) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin ise

61

hiçbirinde termofilik *Campylobacter* türleri tespit edilememiştir. Benzer şekilde, soğuk aylarda incelenen 80 boyun derisi örneğinin 65'inde (% 81.25) ve 80 bağırsak içeriği örneğinin 26'sında (% 32.50) *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmıştır. sıcak aylarda ve soğuk aylarda termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu Çizelge 3.3. ve Sekil 3.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Sıcak aylarda ve soğuk aylarda alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

Sıcak Aylar Soğuk Aylar

Pozitif örnek sayısı/incelenen örnek sayısı (% pozitif)

Örnek tipi Termofilik

Campylobacter spp.

C. jejuni Termofilik

Campylobacter spp.

C. jejuni

Boyun

derisi

69/80 (% 86.25) 57/80 (% 71.25) 69/80 (% 86.25) 65/80 (%81.25)

Bağırsak

içeriği

67/80 (%83.75) 56/80 (%70.0) 39/80 (%48.75) 26/80 (%32.50)

Su 4/16 (%25.0) 3/16 (% 18.75) 0/16 (%0.0) 0/16 (%0.0)

Yem 0/16 (%0.0) 0/16 (%0.0) 0/16 (%0.0) 0/16 (%0.0)

0

10

20

30

40

50

60

70

80

90

Boyun

Derisi

Bağırsak

içeriği

Su Yem Boyun

Derisi

Bağırsak

içeriği

Su Yem

Sıcak Aylar Soğuk Aylar

Termofilik

Campylobacter spp.

C.jejuni

Sekil 3.4. Sıcak aylarda ve soğuk aylarda alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu.

Sıcak aylarda A işletmesinden alınan 40 boyun derisi örneğinin 30'unda (% 75.00), 40 bağırsak içeriği örneğinin 33'ünde (% 82.50) ve kümes suluklarından 62

alınan 8 su örneğinin 1'inde (% 12.50) *C. jejuni* bulunmuştur. Benzer şekilde, B işletmesinden alınan 40 boyun derisi örneğinden 27'sinin (% 67.50), 40 bağırsak içeriği örneğinden 23'ünün (% 57.50) ve kümes suluklarından alınan 8 su örneğinden 2'sinin (% 25) *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır.

Soğuk aylarda A işletmesinden alınan 40 boyun derisi örneğinden 34'ünün (% 85.00) ve 40 bağırsak içeriği örneğinden 17'sinin (% 42.50) *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde, B işletmesinden alınan 40 boyun derisi örneğinin 31'inde (% 77.50) ve 40 bağırsak içeriği örneğinin 9'unda (% 22.50) *C. jejuni* belirlenmiştir. Soğuk aylarda, her iki işletmenin kümes suluklarından alınan 16 su örneğinin hiçbirinde (% 0) *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmamıştır. İşletmelere

ve örnekleme zamanına bağlı olarak alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunusu Sekil 3.5.'te gösterilmiştir.

0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem
Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem
Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem
Boyun
Derisi
Bağırsak
içerigi
Su
Yem

Sıcak Aylar Soguk Aylar Sıcak Aylar Soguk Aylar

A_şletmesi B_şletmesi

Termofilik *Campylobacter*
spp.

C.jejuni

Sekil 3.5. _şletmelere ve örnekleme zamanına bağlı olarak alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni* bulunusu.

Bu çalışmada, her iki işletmeden sıcak aylarda alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 116'sında (% 65.90) *C. jejuni* saptanmıştır. Aynı şekilde, her iki işletmeden soğuk aylarda alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 91'inin (% 51.70) *C. jejuni* ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu bulgulardan da 63

anlaşılacağı üzere, sıcak aylarda alınan örneklerde *C. jejuni* kontaminasyonu soğuk aylara oranla daha yüksek (% 14.20) düzeyde bulunmuştur. Nitekim istatistiksel yönden yapılan analizde de mevsimsel farklılığın önemli olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır (Sekil 3.6.).

0
10
20
30
40
50
60
70

Relatif Sıcak
Aylar
Relatif Soguk
Aylar
C.jejuni

Sekil 3.6. Sıcak ve soğuk aylara göre örneklerde *C. jejuni* bulunus yüzdesi.

3.2. _dentifikasyon sonuçları

Bu çalışmada, incelenen 384 örnekte 1220 adet termofilik *Campylobacter* susu izole edilmiştir. _zole edilen susların yapılan identifikasyon testleri sonucunda 649'unun *C. jejuni*, 515'inin *C. coli*, 56'sının *C. lari* olduğu saptanmış olup, bunlara

iliskin bulgular Sekil 3.7.'de gösterilmiştir.

5342% %

5% *C.jejuni*

C.coli

C.lari

Sekil 3.7. Tüm örneklerden izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımı

64

3.3. PCR sonuçları

Çalışmanın ikinci aşamasında klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen susların PCR tekniğiyle doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla, klasik kültür tekniğinde *C. jejuni* olarak belirlenen toplam 207 susun PCR tekniğinde 171'inin (% 82.00) *C. jejuni* olduğu saptanmıştır. PCR amplifikasyon ürünlerinin elektroforez işlemi takiben transilüminatörde görünümü Sekil 3.8.'de gösterilmiştir.

Sekil 3.8. PCR amplifikasyon ürünlerinin elektroforez işlemi takiben transilüminatörde görünümü. 1 ve 20 DNA marker, 2-4-5-9-10-11-13-18 negatif sonuç, 3-6-7-8-12-16-17-19 pozitif sonuçlar, 15 pozitif kontrol, 14 negatif kontrol (bidistile su).

65

4. TARTISMA

Bu çalışmada, 2004 ve 2005 yıllarında sıcak aylar (mayıs, haziran, temmuz, agustos) ve soguk aylarda (kasım, aralık, ocak, subat) iki farklı piliç kesimhanesinden alınan toplam 384 örnekte (160 adet piliç boyun derisi, 160 adet piliç bağırsak içeriği, 32 adet su ve 32 adet yem örneği) klasik kültür tekniği kullanılarak termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı ile klasik kültür tekniğine göre *C. jejuni* olarak belirlenen izolatlarının PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır.

Bu amaçla alınan toplam 384 örneğin 248'inin (% 64.58), termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımı incelendiğinde, 160 boyun derisi örneğinin 138'inin (% 86.25) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu bulunmuştur. Jorgensen ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, 181 boyun derisi örneğinin 157'sinde (% 86.74) termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Berndtson ve ark. (1992) kesim sırasında örnekledikleri 100 adet pilice ait boyun derisi, karın boslugu ve göğüs etinde termofilik *Campylobacter* türlerinin ortalama % 83.00 düzeyinde bulunmasına karşın, boyun derisi örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin % 89.00 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Berrang ve ark. (2000) swap tekniği ile aldıkları 120 göğüs derisi örneğinin 95'inin (% 79.16) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Rivoal ve ark. (1999) 10'ar adet piliç boyun derisi örneğini gruplandırarak, 1 örnek kabul ettikleri çalışmada 20 grup incelemişler ve bu gruplardan 18'inin (% 90.00) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların (Berndtson ve ark.1992; Rivoal ve ark. 1999; Berrang ve ark. 2001; Jorgensen ve ark. 2002) sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları uyum göstermektedir.

Yine Harrison ve ark. (2001), çalışmalarında piliç göğüs örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin % 82.00 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Kramer ve ark. (2000) ise kesimhaneden aldıkları 125 adet piliç karkas örneğinde termofilik *Campylobacter* türlerini % 83.20 oranında saptamışlardır.

66

Buna karşılık, Denis ve ark. (2001) piliç kesimhanesinde sogutma işlemi takiben aldıkları 49 adet boyun derisi swap örneğinde, termofilik *Campylobacter* kontaminasyonunun % 44.80 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılığın muhtemelen örneklerin sogutma sonrası alınmasından ve örnekleme tekniğinin farklı

olmasından kaynaklandığı düşünölmüştür. Nitekim Lindblad ve ark. (2006) sogutma islemi sonrası piliç karkaslarında, *Campylobacter* spp. insidensinin azaldığını rapor etmişlerdir.

Castillo-Ayala ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada, 32 adet derisiz göğüs örneğinin sadece 12'sinin (% 37.50) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Castillo-Ayala ve ark.'nın (1993) bulguları ile bu çalışmanın bulguları arasında farklılık bulunmakta olup, bu farklılığın muhtemelen örneklerin derisiz olusundan kaynaklandığı düşünölmüştür. Nitekim araştırmacılar (Uyttendaele ve ark. 1999; Berrang ve Dickens 2000) derili piliç etlerinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin derisiz örneklere göre, daha yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir. Buna ilişkin olarak yapılan bir çalışmada, (Savaşçı, 2005) derili 127 adet piliç parça eti örneğinin, 106'sının (% 83.40) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır.

Pamuk (2006) yaptığı çalışmada, piyasada açık olarak satısa sunulan 210 piliç karkasının, 141'inin (% 67.14) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmektedir. Araştırmacının karkaslarda bildirdiği % 67.14'lük termofilik *Campylobacter* düzeyi ile, bu çalışmanın boyun deri örneklerine ilişkin bulguları arasında farklılık bulunmakta olup, bu farklılığın muhtemelen örnekleme teknikleri ile alınan örnekler arasındaki farklılıktan kaynaklandığı düşünölmüştür. Bu çalışma kapsamında, alınan boyun derisi örneklerinden izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu sonucu, 160 boyun derisi örneğinin 122'sinin (% 76.25) *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Rivoal ve ark. (1999) 10'arlı gruplar halinde aldıkları 20 adet boyun derisi örneğinin (n=200) 16'sında (% 80.00) *C. jejuni* kontaminasyonu saptamışlardır. Ono ve Yamamoto

67 (1999) ise, piliç kesimhanesinden iç organ çıkartma islemini takiben aldıkları, 44 piliç karkas örneğinde *C. jejuni* kontaminasyonunun % 77.8 düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, talya'da yapılan bir çalışmada kesimhanelerden alınan 213 piliç karkasında % 72.16 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu olduğu bildirilmiştir (Manfreda ve ark., 2006). Yine Willis ve Murray (1997) marketlerde satısa sunulan 330 piliç karkas örneğinin, 229'unun (% 69.00) *C. jejuni* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Gülmez (1999) taze piliç karkaslarında, *C. jejuni* kontaminasyonunun % 72 düzeyinde bulunduğunu bildirmişdir. Savaşçı (2005) ise 127 adet piliç parça etinin 95'inde (% 74.8) *C. jejuni* kontaminasyonu saptamıştır. Araştırmacıların bulguları (Willis ve Murray, 1997; Gülmez, 1999; Ono ve Yamamoto, 1999; Savaşçı, 2005; Manfreda ve ark., 2006) ile bu çalışmanın bulguları genelde birbirini teyit etmektedir. Berndtson ve ark. (1992) kesim islemi sırasında aldıkları, toplam 79 piliç boyun derisi swap örneklerinin, 70'inin (% 89.00) *C. jejuni* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Jorgensen ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, 181 boyun derisi örneğinden izole edilen 425 termofilik *Campylobacter* izolatının % 98.00'inin *C. jejuni* olduğunu rapor etmişlerdir. Yine Berndtson ve ark. (1996a) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kesim isleminin sogutma aşaması öncesi ve sonrasında alınan boyun derisi örneklerinde, *C. jejuni*'nin sırasıyla % 100 ve % 95.00 düzeyinde bulunduğu bildirilmiştir. Berndtson ve ark.'nın (1996b) bulguları, bu çalışmada boyun deri örneklerinde saptanan *C. jejuni* düzeyinden (% 76.25) daha yüksektir. Bu farklılığın, muhtemelen yetistirme aşamasında meydana gelebilecek muhtemel *C. jejuni* kolonizasyonu ve bunun yanı sıra kesimhaneler arasındaki işlemsel farklılıklar ile mevsimsel, örnekleme teknikleri ve metodolojik farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünölmüştür.

Benzer şekilde Yıldırım'da (1995) yaptığı çalışmada, kesimhanelerden aldığı paketlemeye hazır piliç karkaslarında *C. jejuni* düzeyinin, hava ile sogutulanlarda % 84, su ile sogutulanlarda ise % 100 olduğunu bildirmiştir. Yıldız ve Diker (1992) yaptıkları çalışmalarında, iki farklı piliç kesimhanesinden kesimi takiben aldıkları toplam 170 adet piliç karkasının, 96'sının (% 56.00) *C. jejuni* ile kontamine olduklarını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada, Pamuk (2006) Afyon ilinde açık olarak satılsa sunulan 210 adet piliç karkasının 101'inden (% 50.24) *C. jejuni* izole

ettigini bildirmiştir. Uyttendaele ve ark. (1999) ise Belçika'da yaptıkları çalışmalarında, marketlerde satılan piliç eti örneklerinde % 28.5 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu bildirmişlerdir. Pamuk (2006) ile Uyttendaele ve ark.'nın (1999) *C. jejuni*'ye ilişkin bulguları, bu çalışmada boyun deri örneklerinde saptanan *C. jejuni* düzeyinden (% 76.25) daha düşüktür. Bu farklılığın muhtemelen örnekleme tekniği, örnekleme zamanı ile örnekler arası farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, 160 bağırsak içeriği örneğinin 106'sının (% 66.25) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın bulgularıyla uyum gösteren, Cox ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada 35 adet sürüden alınan toplam 875 adet dışkı örneğinin, 542'sinin (% 62.00) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Yine benzer çalışmalarda, kesimhanelerden alınan bağırsak içeriği örneklerinin, Musgrove ve ark. (2001) % 63.30, Saleha (2002) % 72.63'ünün termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu bildirilmiş olup, araştırmacıların bulguları ile bu çalışmanın sonuçları uyumludur. Ancak Jacobs-Reitsma ve ark. (1995) ile Rivoal ve ark. (1999) çalışmalarında, bağırsak içeriği örneklerinin termofilik *Campylobacter* türleri ile sırasıyla % 82.00 ve % 85.71 düzeyinde kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların sonuçları, bu çalışmada elde edilen bulgulardan (% 66.25) yüksek olup, bu farklılığın muhtemelen kümes hijyeni, sürüler arası farklılık ile örnekleme zamanından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim bazı araştırmacılar, (Pearson ve ark. 1996; Doyle ve Roman 1982a; Jones ve ark. 1991b) bağırsak içeriği örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunusunun, % 0-100 arasında değişkenlik gösterebileceğini bildirmişlerdir. Franchin ve ark. (2005) ise 24 kloakal swap örneğinin 18'inin (% 75.00), termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

Bununla birlikte, Berndtson ve ark. (1996b) piliç kümeslerindeki altlıklardan aldıkları 316 dışkı örneğinin, 97'sinde (% 31.00) termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların bulguları ile bu çalışmanın bulguları arasındaki farklılık, muhtemelen örnek tipleri arasındaki farklılığa bağlanabilir.

69
Nitekim, Ramabu ve ark. (2004) kuru örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin, gerek düşük rutubet gerekse oksijene maruz kalmaları sonucu, canlılıklarını koruyamadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, bağırsak içeriği örneklerinden izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu sonucu, 160 bağırsak içeriği örneğinin 82'sinde (% 51.25) *C. jejuni* saptanmıştır. Benzer konuda yapılan çalışmalarda, bağırsak içeriği örneklerinde *C. jejuni*'nin Diker ve ark. (1987a) % 42.70, Diker ve ark. (1987b) % 50.70, Beery ve ark. (1988) % 55.60, Diker ve Yardımcı (1989) % 39.10, Stern ve ark. (2001) % 40.90, Saleha (2002) % 51.50, Shreeve ve ark. (2002) % 53.00, Herman ve ark. (2003) % 54.00 düzeyinde bulunduğu bildirilmiş

olup, araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmanın bulguları genelde uyum göstermektedir.

Bununla birlikte, bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda bağırsak içerigi örneklerinde, *C. jejuni*'nin Pearson ve ark. (1996) % 36.70, Refrgier-Petton ve ark. (2001) % 31.70, Ertas ve ark. (2002) % 14, Miwa ve ark. (2003) ise % 22.20 düzeyinde bulunduğunu bildirmektedirler. Araştırmacıların bağırsak içerigi örneklerinde, *C. jejuni*'nin bulunusuna ilişkin bulguları bu çalışmada saptanan % 51.25 düzeyinden dşuk olup, bu farklılığın muhtemelen kümes hijyeni, sürüler arası farklılık ile rneklemeye zamanından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Yardımcı ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, deneysel olarak oral yolla *C. jejuni* ve *C. coli* ile infekte edilen civcivlerin bağırsaklarında, bakteriyel kolonizasyonun 3. haftada % 100 olarak tamamlandığını ortaya koymuslardır.

Bu çalışmada, kümes suluklarından alınan 32 su örneğinin 4'nde (% 12.5) termofilik *Campylobacter* türleri saptanmıştır. Alınan örneklerden 8'i kase suluklardan sağlanırken, 24' damla suluk sisteminden alınmıştır. Kase suluklardan alınan 8 örneğın 4'ünün (% 50.00), termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmış, buna karşılık damla suluklardan alınan örneklerin hiçbirinde (% 0) termofilik *Campylobacter* türleri saptanamamıştır. Berndtson ve ark. (1996b) yaptıkları çalışmada, 18 piliç kümesine ait kase suluk ve damla suluk sistemlerinden 70

aldıkları su örneklerinden, sadece kase suluklarda % 21.00 düzeyinde kontaminasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan baska bir çalışmada ise (Berndtson ve ark., 1996a) piliç kmeslerindeki kase suluklardan alınan 300 adet swap örneğinin 90'nının (% 31.00), termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, damla suluk sistemlerinden alınan rnelere ilişkin bulgular, Berndtson ve ark.'nın (1996b) damla suluk sistemlerinden aldığı rnelere ilişkin bulgular ile uyumludur. Aynı sekilde, bu çalışmada kase suluklarda saptanan bulgular (% 50.00), Berndtson ve ark. (1996a) ile Berndtson ve ark. (1996b) bulgularından (% 21-31) yüksek olup, bu farklılığın muhtemelen örnek sayısı ile kümes hijyeninden kaynaklanmış olabileceği dşnlmştr.

Benzer sekilde, yapılan bazı çalışmalarda da (Jones ve ark. 1991a; Jones ve ark. 1991b; Pearson ve ark. 1993) kase suluklardan alınan su örneklerinin hiçbirinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunmadığı rapor edilmiştir. Ancak, Jones ve ark. (1991b) alışmalarında, kase su örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunmamasının beklenmedik bir sonuç olduğunu ve bunun kümes içerisindeki l piliçlerin bulundurulmamasıyla ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Aynı sekilde, Evans ve Sayers'de (2000) 100 sürüye ait kümeslerden alınan, kase klorlu su örneklerinin hiçbirinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, kümes suluklarından alınan su örneklerinden izole edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu sonucu, 32 su örneğinin 3'ünün (% 9.38) *C. jejuni* ile kontamine olduğu ortaya konmuştur. Kase suluklardan alınan 8 örneğın 3' (% 37.50) *C. jejuni* ile kontamine olmasına karşın, damla suluk sistemlerinden alınan örneklerde *C. jejuni* saptanamamıştır. Berndtson ve ark. (1996a) piliç kmeslerindeki kase suluklardan aldıkları, 300 adet swap örneğinin 72'sinde (% 24.00) *C. jejuni* saptamışlardır. Aynı sekilde baska bir çalışmada da (Berndtson ve ark., 1996b) 18 piliç kümesinin kase suluk ve damla suluk sistemlerinden alınan su örneklerinden sadece, kase suluklarda % 18.00 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu olduğu bildirilmiştir.

Ancak yapılan bazı çalışmalarda, (Jones ve ark. 1991b; Pearson ve ark. 1993, Evans ve Sayers 2000) piliç kümeslerinden alınan kase su örneklerinde *C. jejuni* bulunmadığı bildirilmiştir. Araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları arasında farklılık bulunmakta olup, bu farklılığın muhtemelen kümes hijyeni, sürüler arası farklılık ile metodolojik farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada, kümeslerden alınan 32 adet yem örneğinin hiçbirinde (% 0) termofilik *Campylobacter* türleri bulunamamıştır. Benzer şekilde yapılan çalışmalarda, Jones ve ark. (1991b) ile Pearson ve ark. (1993) kümeslerden aldıkları sırasıyla 10 ve 18 adet yem örneğinde, termofilik *Campylobacter* türlerini saptamadıklarını bildirmişlerdir. Yine, Berndtson ve ark. da (1996a) 18 adet kümeden aldıkları yem örneklerinin hiçbirinde, termofilik *Campylobacter* türlerinin bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, her iki işletmeden sıcak aylarda alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 116'sında (% 65.90) *C. jejuni* saptanmıştır. Aynı şekilde, her iki işletmeden soğuk aylarda alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 91'inin (% 51.70) *C. jejuni* ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu bulgulardan da anlaşılabileceği üzere, sıcak aylarda alınan örneklerde *C. jejuni* kontaminasyonu, soğuk aylara oranla daha yüksek düzeyde (% 14.20) bulunmuştur. Nitekim, istatistiksel yönden yapılan analizde de mevsimsel farklılığın önemli olduğu ($P < 0.05$) saptanmıştır. Bununla birlikte, alınan tüm örneklerdeki *C. jejuni* kontaminasyonu sıcak aylarda, soğuk aylara oranla % 14.20 düzeyinde bir artış göstermekle birlikte, Şekil 3.4.'de görüldüğü gibi soğuk aylarda alınan boyun derisi örneklerindeki termofilik *Campylobacter* türlerinin düzeyi, sıcak aylarda alınan örneklerdeki termofilik *Campylobacter*'lerin düzeyi ile benzerlik göstermektedir. Benzer şekilde *C. jejuni* kontaminasyonu da soğuk aylarda alınan boyun derisi örneklerinde, sıcak aylardaki örneklerle oranla daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu sonuçların muhtemelen örnekler farklı mevsimlerde alınmış olsada, örneklerin alındığı kesimhane koşullarından ve yeni kesilmiş piliç karkaslarına ait olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Hudson ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada insan, hayvan, piliç eti ve su örneklerinde kontaminasyonun sıcak aylarda daha yüksek (% 83.00) olduğunu, buna karşın soğuk aylarda daha düşük (% 79.00) olduğunu bildirmişlerdir. Pearson ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada, *C. jejuni* kontaminasyonunun sıcak aylarda belirgin biçimde arttığını rapor etmişlerdir. Meldrum ve ark.'da (2006) üç yıl boyunca kesimhanelerden aldıkları toplam 2228 adet piliç örneğinde, *C. jejuni*'nin mevsimsel dağılımını araştırdıkları çalışmalarında, bakterinin termofilik karakterine bağlı olarak, sıcak aylarda insidensin arttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde, yapılan bir çalışmada da (Manfreda ve ark., 2006) kesimhaneden alınan 213 adet piliç eti örneğinde, *C. jejuni*'nin sıcak aylarda daha fazla bulunduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın bulgularıyla uyum gösteren diğer çalışmalarda da (Stern 1995; Pearson ve ark. 1996; Willis ve Murray 1997; Chen ve Stern, 2001; Herman ve ark. 2003) *C. jejuni*'nin en fazla sıcak aylarda saptandığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, A işletmesinden alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere toplam 176 örneğin 115'inin (% 65.34) *C. jejuni* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde B işletmesinden alınan 80 boyun, 80 bağırsak içeriği ve 16 su örneği olmak üzere, toplam 176 örneğin 92'sinin (% 52.27) *C. jejuni*

ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu kapsamda A işletmesinden alınan örneklerde, *C. jejuni* kontaminasyonu, B işletmesine oranla daha yüksek düzeyde (% 13.07) bulunmuştur. Nitekim istatistiksel yönden yapılan analizde de, işletmeler arasındaki farklılığın önemli olduğu ($P < 0.001$) saptanmıştır. İşletmeler arasındaki farklılığın muhtemelen işletme hijyeni ve kesim tekniğinin farklı olusundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmada B işletmesi teknik donanım ve kesim tekniği yönüyle, A işletmesine göre daha modern bir yapıya sahip olmakla birlikte, B işletmesinden alınan tüm örnekler de % 52.27 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu saptanmıştır. Bu kontaminasyonda B işletmesindeki kesim kapasitesinin yüksek olmasının, muhtemelen haslama tankı, tüy yolma makinesi ve iç organ çıkarma sonrası görülen çapraz kontaminasyon riskinin artırdığı düşünülmüştür.

73

Bu çalışmanın ikinci aşamasında, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen susların PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. PCR tekniği ile yapılan doğrulama işlemi sonucu incelenen 207 susun 171'inin (% 82.00) *C. jejuni* olduğu saptanmıştır.

Klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen susların, PCR tekniği ile doğrulandığı çalışmalarda elde edilen veriler arasında farklılıklar bulunduğu görülmektedir. Bazı araştırmacılar, PCR tekniği ile doğrulamasını yaptıkları *C. jejuni* suslarının PCR tekniğinde % 100 düzeyinde saptandığını bildirmişlerdir. Bu bağlamda, Gonzalez ve ark. (1997) *ceuE* genine özgü primer ile yaptıkları çalışmalarında, 12 adet *C. jejuni* susunun tamamını (% 100) PCR tekniğinde saptadıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde Ertaş ve ark. da (2002) kültür tekniği ile piliç bağırsak içeriği ve karacigerlerden izole ettikleri *C. jejuni* suslarının tamamının (% 100) *ceuE* gen sekansını tasdiklarını saptamışlardır. Benzer şekilde, Wang ve ark. da (2002) *ceuE* genine özgü primer ile yaptıkları çalışmada, 70 adet *C. jejuni* susunun tamamının (% 100) multipleks PCR ile doğrulandığını bildirmişlerdir. Nayak ve ark. (2005) piliç kesimhanelerinden aldıkları bağırsak içeriği, karaciger ile diareli hastaların dışkı örneklerinden izole edilen *C. jejuni* suslarının, *ceuE* gen sekansını kullanarak PCR işlemiyle % 97.00'sini doğruladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, yüksek $MgCl_2$ konsantrasyonları (3.5 mM) ile elde edilen PCR ürünlerinin, elektroforez sonucunda daha belirgin bantlar oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Buna karşılık, On ve Jordan (2003) farklı *Campylobacter* türlerini doğrulamak amacıyla, değişik primerler (23S rRNA, *mapA*, *ceuE*, *hipO*, putative aspartokinase) ve bunların rastgele kombinasyonlarıyla yaptıkları PCR işlemlerinde, % 84-100 arasında spesiflik bulunduğunu ortaya koymuşlardır.

Houng ve ark. (2001) *ceuE* genine özgü primer kullanarak yaptığı PCR işlemi sonucunda, kültür tekniğinde pozitif olarak belirlenen susların % 8.00'nin PCR tekniğinde doğrulanmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar negatif sonuçların nedenini, muhtemelen ekstraksiyon sırasında koloniyle alınan besi yerlerinden

74

kaynaklandığını bildirmişlerdir. Nitekim Ng ve ark. da (1997) besi yeri içeriğinde bulunan pepton ve agar kalıntısının, PCR ürünlerinin oluşmasını inhibe ettiklerini bildirmişlerdir.

Danimarka'da yapılan bir çalışmada da (Lund ve ark., 2004) klasik kültür tekniğinde *C. jejuni* olarak saptanan 6 susun, PCR tekniği ile doğrulanamadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, İngiltere'de yapılan bir çalışmada (Lawson ve ark.

1999) klasik kültür tekniginde *C. jejuni* olarak belirlenen suslardan, % 9.60'sının PCR teknigi ile dogrulanamadığı rapor edilmistir. Yapılan baska bir çalışmada (Wainø ve ark. 2003) ise 309 adet *C. coli* susunun % 29'unun PCR tekniginde saptanamadığı ortaya konulmustur. Arastirmacilar (Lawson ve ark. 1999; Wainø ve ark. 2003; Lund ve ark., 2004) klasik kültür tekniginde *C. jejuni* olarak tanımlanan susların, PCR teknigi ile dogrulanmamasının muhtemel nedeninin, ekstraksiyonda kullanılan hücre yogunlugunun az olmasından kaynaklandığını bildirmislerdir. Nitekim, Chandler ve ark. (1998) ile Wong ve ark. (2004) *Campylobacter* türlerinin PCR teknigi ile saptanmasında hücre yogunlugunun önemli oldugunu kaydetmislerdir.

Bazı arastirmacilar da (Denis ve ark. 1999; Ferner ve Engvall 1999; Hong ve ark. 2003; Bae ve ark. 2005; Poulsen ve ark. 2005) PCR isleminde yanlış negatif sonuçların olusabildigini, bununda muhtemelen ekstraksiyon sırasında olusan hücre kalıntılarının *Taq* DNA polymerase'i inhibe etmelerinden, parçalanmış hücrelerden ortaya çıkan metabolitlerin inhibitörük etkilerinden ve iyonlara bağlanmalarından, uygun olmayan ekstraksiyon sonucu DNA'nın salınmamasından kaynaklanabilecegini kaydetmislerdir. Nitekim ekstraksiyon metodlarının, PCR sonuçlarına etkisinin arastırıldığı bir çalışmada (Mohran ve ark. 1998) DNA ekstraksiyonunda kaynatma yöntemi kullanıldığında 33 adet *C. jejuni* susunun 4'ünün (% 12) PCR tekniginde negatif sonuç verdigini, buna karsın Proteinaz K-SDS enzimi ile yapılan ekstraksiyon islemi sonucu tüm susların (% 100) PCR teknigi ile saptandığı bildirilmistir.

75

Keramas ve ark. ise (2004) piliç kesimhanelerinden aldıkları 65 adet bagırsak içeriginde, klasik kültür teknigi ve Cj0047 ve *hipO* genlerine spesifik iki ayrı primer kullanarak PCR islemi yapmışlardır. Çalışma sonucunda, klasik kültür tekniginde örneklerin 35'inde (% 54.00), Cj0047 genine özgü primer ile yapılan PCR isleminde 46'sında (% 71.00) ve *hipO* genine özgü primer ile yapılan PCR isleminde ise 40'ında (% 62.00) *C. jejuni* saptadıklarını bildirmislerdir. Arastirmacilar, PCR tekniginde primer seçiminin önemli oldugunu ve sonuçları etkileyebilecegini rapor etmişlerdir.

Lilja ve Hanninen (2001) ise PCR-ELISA teknigi ile kültür metodunu karsılaştırdıkları çalışmada, klasik kültür metodunda 37 örnekte *C. jejuni* saptamalarına karsılık, PCR-ELISA teknigi ile örneklerin 35'inde *C. jejuni* saptamışlardır. Arastirmacilar (Lilja ve Hanninen 2001) PCR tekniginde ortaya çıkan negatif sonuçların, ekstraksiyonda meydana gelen hatalardan kaynaklandığını ve tekrar edilen çalışmalarda, pozitif sonuç elde ettiklerini bildirmislerdir. Pamuk (2006) yaptığı çalışmada, kültür teknigi ile *C. jejuni* olarak belirlediği 101 adet susun PCR tekniginde 62'sinin (% 61.38) *C. jejuni*'ye özgü *ceuE* gen sekansını buldurdugunu bildirmistir.

Bazı arastirmacilar, klasik kültür metodunda *C. jejuni* ile *C. coli*'nin ayırımında kullanılan belirleyici hippurat hidrolizi testinin görsel bir test olması nedeniyle, bazen yanlış sonuçların ortaya çıkabilecegini bildirmislerdir (Morris ve ark., 1985; Bolton ve ark., 2002). Nitekim bu kapsamda yapılan çalışmalarda da, PCR tekniginin klasik kültür metoduna oranla daha hızlı ve duyarlı oldugu, ayrıca *ceuE* geninin belirlenmesinin, klasik kültür tekniginde *C. jejuni* ve *C. coli*'nin ayırımında kullanılan hippurat hidrolizi testine göre, daha güvenilir oldugu bildirilmistir (Giesendorf ve ark. 1992; Gonzalez ve ark., 1997; Rautelin ve ark., 1999; Ertas ve ark., 2002; Wang ve ark. 2002).

Bu çalışmada, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen 207 susun 171'i (% 82) PCR tekniğinde doğrulanmıştır. Bu bulgular, PCR işlemi ile test edilen *C. jejuni* suslarının % 97-100 düzeyinde doğrulandığını bildiren araştırmacıların

76

(Gonzalez ve ark. 1997; Ertas ve ark. 2002; Wang ve ark. 2002; Nayak ve ark. 2005) sonuçları ile uyum göstermemektedir. Bununla birlikte, çalışmalarında PCR işleminde *C. jejuni* suslarının, kullanılan primerlere bağlı olarak % 84-100 arasında doğrulandığını bildiren On ve Jordan (2003) ile yine PCR işleminde *C. jejuni* suslarının % 8.00 (Houng ve ark. 2001), % 9.6 (Lawson ve ark. 1999) ve % 12.00'sinin (Mohran ve ark. 1998) negatif sonuç verdiğini bildiren araştırmacıların sonuçları ile genelde uyumlu görülmektedir. Mohran ve ark. (1998) kaynatma metoduyla yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu, *C. jejuni* suslarından 4'ünün doğrulanmamasına karşın, aynı susların Proteinaz K-SDS enzimi ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu doğrulandığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Lilja ve Hanninen'de (2001) PCR işlemlerinde ortaya çıkan negatif sonuçların, ekstraksiyon işlemlerinde meydana gelen hatalardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacıların (Ng ve ark. 1997; Denis ve ark. 1999; Ferner ve Engvall 1999; Houng ve ark. 2001; Hong ve ark. 2003; Bae ve ark. 2005; Poulsen ve ark. 2005) bildirdiği gibi, ekstraksiyon sırasında oluşan besiyeri ve hücre kalıntılarının, *Taq* DNA polimerase'ı inhibe etmelerinin yanı sıra, parçalanmış hücrelerden ortaya çıkan metabolitlerin inhibitörük etkileri ve iyonlara bağlanmaları sonucu PCR işleminde yanlış negatif sonuçların görülebileceğinin, muhtemelen bu çalışmadaki bazı susların doğrulanmamasında rol oynamış olabileceği düşünülmüştür.

77

5. SONUÇ VE ÖNERLER

Campylobacter jejuni, dış koşullara duyarlı olmasına karşın gerek minimal infeksiyöz dozunun düşük olması gerekse, piliç kesimhanelerindeki çapraz kontaminasyonlar nedeniyle piliç eti tüketiminden kaynaklanan gıda infeksiyonlarının en önemli etkenlerindedir. Türkiye'de piliç eti ve ürünlerinin tüketimindeki artış, halk sağlığı açısından *C. jejuni*'nin önemini artırmaktadır. Bu çalışmada, piliç kesimhanelerinden alınan boyun derisi ve bağırsak içeriklerinin yanı sıra piliç kümeslerinden alınan su ve yem örnekleri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarının da isaret ettiği gibi, örneklerin *C. jejuni* ile kontaminasyonu mevsimsel bir degiskenlik göstermektedir.

Çalışma sonucunda, klasik kültür tekniğinde *C. jejuni* olarak belirlenen 207 susun 171'i (% 82.00) PCR tekniğinde doğrulanmıştır. *C. jejuni*'nin identifikasyonunda önem arz eden hippurat hidrolizi ve antibiyotik dirençlilik testlerinin, tam ve güvenli olmaması nedeniyle yanlış sonuçların oluşabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, termofilik *Campylobacter* türlerinin belirlenmesinde, türlere özgü primerler ile PCR tekniğinin daha hızlı ve güvenilir olacağı düşünülmektedir.

Bütün bu verilerin ışığında, piliç kesimhanelerinden alınan boyun derilerinde termofilik *Campylobacter* türleri ile yüksek düzeyde kontaminasyon bulunmaktadır. Buna bağlı olarak, yetistirme aşamasında meydana gelecek potansiyel bir bulaşmanın önüne geçilmesinin, kesimhanede meydana gelebilecek kontaminasyonu azaltabileceği göz önüne alınmalıdır. Piliç eti ve ürünlerinin hijyenik kalitesinin sağlanmasında, çiftlikten masaya ulaşana kadar gıda güvenlik programları ve HACCP sistemlerinin uygulanması önemlidir.

78

ÖZET

Piliç Karkaslarına Ait Boyun Derilerinde Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Varlığı Ve *C. jejuni*'nin PCR Tekniği ile Saptanması

Bu çalışmada, piliç kesimhanelerinde yeni kesilmiş piliç karkaslarından alınan piliç boyun derileri ve bağırsak içeriği ile piliçlerin kesimhaneye getirildiği kümeslerden alınan yem ve su örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerini kültür tekniği ile belirleyerek, *C. jejuni* olarak saptanan susların, PCR tekniği ile doğrulanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, iki farklı piliç kesimhanesinden sıcak aylar (mayıs, haziran, temmuz, agustos) ve soğuk aylarda (kasım, aralık, ocak, subat) 160 adet piliç boyun derisi, 160 adet bağırsak içeriği ile 32'şer adet yem ve su örneği olmak üzere toplam 384 örnek alınmıştır. Alınan tüm örneklerde, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda zenginleştirme işlemine dayalı ISO (The International Organization for Standardization, 10272) yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, 384 örneğin 248'sinin (% 64.58) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. Alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin dağılımı incelendiğinde, 160 boyun derisi örneğinin 138'inin (% 86.25), 160 bağırsak içeriği örneğinin 106'sının (% 66.25) ve 32 su örneğinin 4'ünün (% 12.5) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. İncelenen 32 adet yem örneğinin hiçbirinde (% 0) ise termofilik *Campylobacter* türleri bulunamamıştır. *C. jejuni* ise alınan 384 örneğin 207'sinde (% 52.34) saptanmış olup, örnek bazında 160 boyun derisinin 122'sinde (% 76.25), 160 bağırsak içeriğinin 82'sinde (% 51.25) ve 32 suyun 3'ünde (% 9.38) saptanmıştır. *C. jejuni* sıcak aylarda alınan 176 örneğin 116'sında (% 65.90) bulunmasına karşın, soğuk aylarda alınan 176 örneğin 91'inde (% 51.70) saptanmıştır. İstatistiksel yönden yapılan analizde de, mevsimsel farklılığın önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen susların, PCR tekniğiyle doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla, klasik kültür tekniğinde *C. jejuni* olarak belirlenen toplam 207 susun, PCR tekniğinde 171'inin (% 82.00) *C. jejuni* olduğu doğrulanmıştır.

Sonuç olarak, piliç kesimhanelerinde yeni kesilmiş piliç karkaslarından alınan piliç boyun derileri ve bağırsak içeriklerinin yüksek düzeyde *C. jejuni* ile kontamine olduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle çiftlikten masaya gıda güvenliği kapsamında, kümes hijyeni ve kesim hijyeninin sağlanması için, kanatlı sektöründe HACCP ve GMP sistemlerinin uygulanması, meydana gelecek *C. jejuni* kontaminasyonunu kontrol etmeye yardımcı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Bağırsak içeriği, *C. jejuni*, PCR, Piliç boyun derisi, Termofilik *Campylobacter* spp.

79

SUMMARY

Occurrence Of Thermophilic *Campylobacter* Species On Chicken Neck Skins Taken From Poultry Slaughterhouse And Confirmation Of *C. jejuni* Isolates Using PCR Technique

This study was designed to determine the presence of thermophilic *Campylobacter* spp. using the conventional cultural technique from neck skin, intestinal contents of slaughtered chickens, and water, feed samples of same flock taken at the farm level. *C. jejuni* strains obtained using conventional cultural technique were confirmed using the PCR technique. For this purpose totally 384 samples consisting of 160 chicken

neck skin, 160 intestinal content, 32 feed, and 32 water samples obtained from two different slaughterhouses on relative warm months (May, June, July, August) and relative cold months (November, December, January, February). In all samples, isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* spp. held using the enrichment based ISO (The International Organization for Standardization, 10272) method.

The contamination with thermophilic *Campylobacter* spp. was detected in 248 (64.58 %) of 384 samples. Thermophilic *Campylobacter* spp. contamination on neck skin, intestinal content, and water samples were 86.25 %, 66.25 %, and 12.5 % respectively. None of the 32 feed samples were found to be contaminated with thermophilic *Campylobacter* spp. *C. jejuni* contamination detected in 207 (52.34 %) of 384 samples. The distribution of *C. jejuni* contamination in samples were, 122 (76.25 %) of 160 neck skin, 82 (51.25 %) of 160 intestinal content, 3 (9.38 %) of 32 water samples. Totally 176 samples were taken in hot months, and 116 (65.90 %) were found to be contaminated with *C. jejuni*. On the other hand 91 (51.70 %) of 176 samples taken on cold months were found to be contaminated with *C. jejuni*. These results statistically indicate a significant seasonal difference ($P < 0.05$).

At the second step of the study, *C. jejuni* strains obtained using conventional cultural technique were confirmed using PCR technique. PCR confirmation of strains showed that 171 (82.00 %) of 207 strains were confirmed as *C. jejuni*.

The results of this study indicate that chicken neck skins and intestinal contents of newly slaughtered chickens are contaminated with *C. jejuni*. Due to the results obtained from this study showed that, of chicken meat from farm to table, maintenance of flock hygiene and slaughter hygiene with application of HACCP and GMP systems will help control of *C. jejuni* contamination.

Key words: *C. jejuni*, Chicken neck skin, Intestinal content, PCR, Thermophilic *Campylobacter* spp.

80

KAYNAKLAR

- AARESTRUP F.M., WEGENER H.C. (1999). The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes Infect.* **1**: 639-644.
- ALLEN, K.J. and GRIFFITHS, M.W. (2001). Use of luminescent *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 to assess eggshell colonization and penetration in fresh and retail eggs. *J. Food Prot.* **64**:2058-2062.
- ALLOS, M.B. (1997). Association between *Campylobacter* infection and Guillain Barré Syndrome. *J. Infect. Dis.* **176**:125-128.
- ALTEKRUSE, S. F., STERN, N.J. FIELDS, P.I., SWERDLOW, D.L., (1999). *Campylobacter jejuni* emerging foodborne pathogen. *Emerging Infect. Dis.* **5**: 28-35.
- ALTEKRUSE, S. F., TOLLEFSON, K. L. (2003). Human *Campylobacteriosis*: a Challenge for the veterinary profession. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **223**: 445-452.
- ANONYMOUS (1974). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 8th Edition. Ed: GARRITY, G.M. and BOONE, D.M. Springer Medical Pres. NY.
- ANONYMOUS (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Ed: HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.A.H. Springer Medical Pres. NY.
- ANONYMOUS (1995). *Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant Campylobacter*. The International Organization for Standardization- 10272.
- ANONYMOUS (1999). A review of campylobacteriosis in humans and animals from the eastern region 1999. ERHA Zoonosis Committee.
- Erisim adresi: <http://www.erha.org> Erisim tarihi: 18.05.2006.
- ANONYMOUS (2000). European Commission Opinion of the Scientific Committee on Veterinary

Measures relating to Public Health on Foodborne Zoonoses. Brussels: Health & Consumer Protection Directorate-General. April 2000.

Erisim Adresi: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out32_en.pdf

Erisim Tarihi: 12.05.2004.

ANONYMOUS (2002a). Control of *Campylobacter* species in the food chain.

Erisim Adresi: <http://www.fsai.ie> Erisim Tarihi: 22.11.2004.

ANONYMOUS (2002b) World Health Organization. The increasing incidence of human campylobacteriosis. Report and proceedings of a WHO consultation of experts, Copenhagen, Denmark, 21-25 November 2000.

Erisim adresi: <http://www.who.int> Erisim tarihi: 28.02.2005.

ANONYMOUS (2002c). UK-wide survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of fresh and frozen chicken on retail sale. Food Standards Agency.

ANONYMOUS (2003a). Campylobacter food poisoning outbreaks data base.

Erisim adresi:<http://www.about-campylobacter.com/page5.htm>. Erisim tarihi: 23.02.2004.

81

ANONYMOUS (2003b) Institute of Food Science and Technology: Campylobacteriosis and how to safe guard against it?

Erisim adresi: <http://www.ifst.org/hottop3.htm> Erisim tarihi:02.02.2004.

ANONYMOUS (2004a). European poultry production by country 2000-2010.

Erisim adresi: <http://www.researchandmarkets.com/reports/53506> Erisim tarihi: 08.01.2005.

ANONYMOUS (2004b). Food and Drug Administration. Food Balance Sheets: 1995-2000.

Erisim adresi: <http://www.who.int> Erisim Tarihi: 06.03.2005.

ANONYMOUS (2004c). Food and Drug Administration. Food Balance Sheets: 2000-2005.

Erisim adresi: <http://www.who.int> Erisim Tarihi: 06.03.2005.

ANONYMOUS (2004d). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* growing at 41.5° C. The International Organization for Standardization- 10272.

ANONYMOUS (2005). Campylobacteriosis definitions and aspects.

Erisim adresi: <http://encyclopedia.laborlawtalk.com/Campylobacteriosis> Erisim tarihi: 18.08.2005.

ANNAN-PRAH A, JANC M. (1988) The mode of spread of *Campylobacter jejuni/coli* to broiler flocks. *Zentralbl Veterinarmed B.* **35**:11-18.

ARSENE, F., TOMOYASU, T., BUKAU,B. (2000). The heat shock response of *Escherichia coli*. *Int. J. Food Microbiol.* **55**: 3–9.

AVRAIN, L., HUMBERT, F., HOSPITALIER, R.L., SANDERS, P., ROZAND, C.V., KEMPF, I. (2003). Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers:association with production type and antimicrobial use. *Vet. Microbiol.* **96**:267-276.

BAE, W., KAYA, K.N., HANCOCK, D.D., CALL, D.R., PARK, Y.H., BESSER, T.E. (2005). Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* spp. from cattle farms in Washington state. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 169-174.

BAILLON, M.L., VAN VLIET, A.H., KETLEY, J.M., CONSTANTINIDOU,C., PENN, C.W. (1999) An iron-regulated alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) confers aerotolerance and oxidative stress resistance to the microaerophilic pathogen *Campylobacter jejuni*. *J. Bacteriol.* **181**:4798–4804.

BAKER, M., BALL, A., DEVANE, M., GARRETT,N., GILPIN, B., HUDSON, A., KLENA, J., NICOL, C., SAVILL, M., SCHOLES, P., WILLIAMS, D. (2002). Potential transmission routes of *Campylobacter* from environment to humans.

Erisim adresi: [http://www.moh.govt.nz/moh.nsf/0/d9ae6ace/\\$FILE/CampylobacterReport1.pdf](http://www.moh.govt.nz/moh.nsf/0/d9ae6ace/$FILE/CampylobacterReport1.pdf)

Erisim tarihi: 28.07.2005

BANG, D.D., NIELSEN, E.M., SCHEUTZ, F., PEDERSEN, K., HANDBERG, K., MADSEN, M. (2003). PCR 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**: 1003-1014.

BASSLER, B.L. (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr. Opin. Microbiol.* **2**: 582–587.

BEERY, J.T., HUGDAHL, M.B., DOYLE, M.P. (1988). Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 2365-2370.

82

BERNDTSON, E., TIVEMO, M., ENGVALL, A. (1992). Distribution and numbers of

Campylobacter in newly slaughtered broiler chickens and hens. *Int. J. Food Microbiol.* **15**:45-50

BERNDTSON, E., DANIELSSON-THAM, M.L., ENGWALL, A. (1996a). *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Food Microbiol.* **32**: 35-47.

BERNDTSON, E., EMANUELSON, U., ENGWALL, A., DANIELSSON-THAM, M.L. (1996b). A 1 year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. *Prev. Vet. Med.* **26**: 167-185.

BERRANG, M.E., DICKENS, J.A. (2000). Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. *J. Appl. Poultry Res.* **9**:43-47.

BERRANG, M.E., BUHR, R.J., CASON, J.A. (2000). *Campylobacter* recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. *Poultry Sci.* **79**: 286-290.

BERRANG, M.E., BUHR, R.J., CASON, J.A., DIXKENS, J.A. (2001). Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.* **64**:2063-2066.

BERRANG, M.E., SMITH, D.P., WINDHAM, W.R., FELDNER, P.W. (2004). Effect of intestinal content contamination on broiler carcass *Campylobacter* counts. *J. Food Prot.* **67**:235-238

BLASSER, M.J., LAFORCE, F.M., WILSON, N.A., WANG, W.L. (1980). Reservoirs for human campylobacteriosis. *J. Infect. Dis.* **141**: 665-669.

BOLTON, F.J., ROBERTSON, L. (1982). A Selective Medium for Isolating *Campylobacter jejuni/coli*. *J. Clin. Pathol.* **35**:462-467.

BOLTON, F. J., SAILS, A. D., FOX, A. J., WAREING, D. R. A., GREENWAY, D. L. A. (2002). Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in foods by enrichment culture and polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Food Prot.*, **65**: 760-767.

BRYAN, F.L., DOYLE, M.P. (1995). Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Prot.* **58**: 326-344.

BUCK, G.E., PARSHALL, K.A., DAVIS, C.P. (1983). Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* **18**:420-421.

BUSWELL, C.M., HERLIHY, Y.M., LAWRENCE, L.M., MCGUIGGAN, J.T.M., MARSH, P.D., KEEVIL, C.W., LEACH, S.A. (1998). Extended survival and presence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent antibody and rRNA staining. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:733-741

BUTZLER, J.P., SKIRRIOW, M.B. (1979) *Campylobacter* enteritis. *Clin. Gastroenterol.* **8**:737-765

BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**:868-876.

CAMPBELL, K.W., GILBERT, S.A. (1995). National food Project: Poultry quality assesment.

Wellington, New Zeland: Ministry of Health. In: LAKE, R., HUDSON, A., CRESSEY, P., NORTJE, G. (2003). Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in poultry (whole and pieces).

Erisim Adresi: <http://www.esr.cri.nz> Erisim Tarihi: 28.07.2005

83

CAPPELIER, J.M., LAZARO, B., ROSSERO, A., FERNANDEZ-ASTORGA, A., FEDERIGHI, M. (1997). Double staining (CTC-DAPI) for detection and enumeration of viable but nonculturable *Campylobacter jejuni* cells. *Vet. Res.* **28** :547-555.

CASTILLO-AYALA, A., SALAS-UBIARCO, M.G., PADILLA-MARQUEZ, M.L., OSORIOHERNANDEZ, M.D. (1993). Incidence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in raw and roasted chicken in Guadalajara, Mexico. *Rev. Latinoam Microbiol.* **35**:371-375.

CAWTHRAW, S.A., WASSENAAR, T.M., AYLING, R., NEWELL, D.G. (1996). Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. *Epidemiol Infect.* **117**:213-5.

CAWTHRAW, S.A., LIND, B., KAIJSER, B., NEWELL, D.G. (2000). Antibodies directed towards *Campylobacter jejuni* antigens, in sera from poultry abattoir workers. *Clin. Exp. Immunol.* **122**:55-60.

CHANDLER, D.P., WAGNON, C.A., BOLTON, H. (1998). Reverse transcriptase (RT) inhibition of PCR at low concentrations of template and its implications for quantitative RT-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:669-677.

CHEN, H.C., STERN, N.J. (2001). Competitive exclusion of heterologous *Campylobacter* spp. in chicks. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**:848-851.

CLOAK, M.O., DUFFY, G., SHERIDAN, J.J., BLAIR, I.S., Mc DOWELL, D.A. (2001a). A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of a surface adhesion polymerase

chain reaction (SA-PCR) assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. *Food Microbiol.* **18**:287-298.

CLOAK, O.M., DUFFY, G., SHERIDAN, I., BLAIR, I., MCDOWELL, D.A. (2001b). Bacterial attachment on meat. *Food Microbiol.* **18**:287-298.

COGAN, T.A., BLOOMFIELD, S.F., HUMPREY, T.J. (1999). The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross contamination from chicken carcasses in the domestic chicken. *Lett. Appl. Microbiol.* **29**:354-358.

COKER, A.O., ISOKPEHI, R.D., THOMAS, B.N., AMISU, K.O., OBI, C.L. (2002). Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerg. Inf. Dis.* **8**:237-243.

COOLS, I., UYTENDALE, M., CERPENTIER, J., D'HAESE, E., NELIS, H.J., DEBEVERE, J. (2005). Persistence of *Campylobacter jejuni* on surfaces in a processing environment and cutting boards. *Lett. Appl. Microbiol.* **40**:418-423.

CORRY, J.E.L., ATABAY, H. I. (2001). Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J. Appl. Microbiol.* **92**: 96-114.

CORRY, J.E.L., POST, D.E., COLIN, P., LASINEY, M.J. (1995). Culture media for the isolation of campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.* **26**:43-76.

COX, N., STERN, N., WILSON, M., MUSGROVE, M., BUHR, R., HIETT, R. (2001). Isolation of campylobacters from semen samples of commercial 50 week old parent roosters. *Int. J. Med. Microbiol.* **291**:39.

COX, N., STERN, N., MUSGROVE, M., BAILEY, J.S., CRAVEN, S.E., FEDORKA-CRAY, P., BUHR, R., HIETT, R. (2002). Prevalence and level of *Campylobacter* in commercial broiler breeders (parents) and broilers. *J. Appl. Poult. Res.* **11**:187-190.

CRAVEN, S.E., STERN, N.J., LINE, E., BAILEY, J.S., COX, N.A., FEDORKA-CRAY, P. (2000). Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* and *Clostridium perfringens* in wild birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian. Dis.* **44**:715-720.

CRUSHELL, E., HARTY, S., SHARIF, F., BOURKE, B. (2004). Enteric *Campylobacter*: Purging its secrets? *Pediatr. Res.* **55**:3-12.

DE BOER, E., HAHNE, M. (1990). Cross-contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. from raw chicken products during food preparation. *J. Food Prot.* **53** : 1067-1068.

DENIS, M., SOUMET, C., RIVOAL, K., ERMEL, G., BLIVET, D., SALVAT, G., COLIN, P. (1999). Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C.coli*. *Lett. Appl. Microbiol.* **29**: 406-410.

DENIS, M., REFREGIER-PETTON, J., LAISNEY, M., ERMEL, G., SALVAT, G. (2001). *Campylobacter* contamination in fresh chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Appl. Microbiol.* **91**: 255-267.

D_KER, S. (1984). Koyun ve sığırlardan izole edilen *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu üzerinde çalışmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

D_KER, S., AYDIN, N., YARDIMCI, H., ARDA, M. (1987a). Isolation of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter laridis* from intestine of broilers. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* **34**: 207-215.

D_KER, S., YARDIMCI, H., AYDIN, N. (1987b). Location of thermophilic *Campylobacter* spp. in various parts of chicken intestines. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* **34**: 570-576.

D_KER, S., YARDIMCI, H. (1989). Isolation and characterization of *Campylobacter* species from chickens. *Doga. Tu J. Vet. Sci.* **13**: 257-264.

D_ZGAH, G. D. (1996). İstanbul piyasasında satılan çeşitli kanatlı eti ve ürünlerinde *Campylobacter jejuni*'nin varlığı üzerine araştırmalar. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

DOYLE, L.P. (1944). A vibrio associated with swine dysentery. *Am. J. Vet. Res.* **5**: 3-5. In STERN, N.J., KAZMI, S.U. (1989). *Campylobacter jejuni*. Erisim adresi: <http://griffin.peachnet.edu>
Erisim tarihi: 08.04.2004

DOYLE, M.P., ROMAN, D.J. (1982a). Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 561-565.

DOYLE, M.P., ROMAN, D.J. (1982b). Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**:1154-1158.

DYKES, G.A., SAMPATHKUMAR, B., KORBER, D.R. (2003). Planktonic or biofilm growth affects survival, hydrophobicity and protein expression patterns of a pathogenic *Campylobacter*

jejuni strain. *Int. J. Food Microbiol.* **89**:1-10.

EGEN, S. (2000). Untersuchungen zur Tenezität von *Campylobacter jejuni*- Einfluß von Trägermaterial, relativer Luftfeuchte und Temperatur auf zwei ausgewählte Stämme-. Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

ENGBERG, J., GERNER-SMIDT, P., SCHEUTZ, F., MOLLER-NIELSEN, E., ON, S.L., MOLBAK, K. (1998). Water borne *Campylobacter jejuni* infection in a Danish town---a 6 week continuous source outbreak. *Clin. Microbiol. Infect.* **4**:648-656.

EROL, _ (1999). Besin Hijyeni. Ders Notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara. 85

ERTAS, H.B., ÇET_NKAYA, B., MUZ, A., ÖNGÖR, H. (2002). Tavuk orijinli *Campylobacter coli* ve *Campylobacter jejuni*'nin Polymerase Zincir Reaksiyonu ile identifikasyonu. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* **26**:1447-1452.

ESCHERICH, T. (1886). Beitrage zur Kenntniss der Darmbakterien. III. Ueber das Vorkommen von Vibronen im Darmcanal und den Stuhlgangen der Sauglinge. *Münchener Med. Wochenschrift.* **33**:815-817. In: BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**:868-876.

EVANS, M.R., ROBERTS, R.J., RIBERIO, C.D., GARDNER, D., KEMBREY, D. (1996). A milk borne campylobacter outbreak following an educational farm visit. *Epidemiol. Infect.* **117**: 457-462.

EVANS, S.J., SAYERS, A.R. (2000). A longitudinal study of campylobacter infection of broiler flocks in Great Britain. *Prev. Vet. Med.* **46**: 209-223.

FAHEY, T., MORGAN, D., GUNNEBURG, C., ADAK, G.K., MAJID, F., KACMARSKI, E. (1995). An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis associated with failed milk pasteurization. *J. Infect.* **31**:137-143.

FEDERIGHI, M., THOLOZAN, J.L., CAPPELLIER, J.M., TISSIER, J.P., JOUVE, J.L. (1998). Evidence of non-cocoid viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* cells in microcosm water by direct viable count, CTC-DAPI double staining, and scanning electron microscopy. *Food Microbiol.* **15**: 539-550.

FEDERIGHI, M., MAGRAS, C., PILET, M.F., WOODWARD, D., JOHNSON, W., JUGIAU, F., JOUVE, J.L. (1999). Incidence of thermotolerant *Campylobacter* in foods assessed by NF ISO 10272 standart: results of a two year study. *Food Microbiol.* **16**:195-204.

FERNER, C., ENGVALL, E.O. (1999). Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic campylobacters, *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari* and *C.upsaliensis*. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 3370-3373.

FERNANDEZ, H., VERGARA, M., TAPIA, F. (1985) , Desiccation resistance in thermotolerant *Campylobacter* species. *Infection* **13**: 197-198.

FERNANDEZ, H. , PISON, V. (1996) Isolation of thermotolerant species of *Campylobacter* from commercial chicken livers. *Int. J. Food Microbiol.* **29**: 75–80.

FERNIE, D., PARK, R. (1977). The isolation and nature of *Campylobacters* (microaerophilic vibrios) from laboratory and wild rodents. *J. Med. Microbiol.* **10**:235-239 In NEWELL, D.G. and FEARNLEY, C. (2003). Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**:4343-4351.

FIELDS, L.H., HEADLEY, V.L. , PAYNE, S.M., BERRY, L.J. (1986). Influence of iron on growth, morphology, outer membrane protein composition, and synthesis of siderophores in *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.* **54**:126–132.

FOLEY, B., MC KEOWN, P. (2001). Report on Campylobacteriosis in Ireland, 2001. National Disease Surveillance Centre.

Erisim adresi:<http://www.fsai.ie> Erisim tarihi:12.04.2004.

FRANCHIM, P.R., AIDOO, K.E., BATISTA, C.R.V. (2005). Sources of meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. *Braz. J. Microbiol.* **36**: 268-278.

FRANK, J. F. (2001). Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv.Food Nut.Res.* **43**: 339-343.

86

FRICKER, C. (1984). Procedures for the isolation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry. *Int. J. Food Microbiol.* **1**: 149-154.

FROST, J.A. (2001). Current epidemiological issues in human campylobacteriosis. *J. Appl. Microbiol.* **90**:85-95.

GIESSEN, A.V.D., BLOEMBERG, B. (1996). Epidemiological study on risk factors and risk reducing measures for campylobacter infection in Dutch broiler flocks. *Epidemiol. Infect.*

117:245-250

- GIESENDORF, B.A., QUINT, W.A., HENKENS, M., STEGEMAN, H., HUF, F.A., NIESTERS, H.G. (1992). Rapid and sensitive detection of *Campylobacter* spp. in chicken products by using the polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 3804–3808.
- GILBERT, M., BRISSON, J.R., KARWASKI, M.F., MICHNIEWICZ, J., CUNNINGHAM, A.M., WU, Y. (2000). Biosynthesis of ganglioside mimics in *Campylobacter jejuni*. *J. Bio. Chem.* **32**: 1022-1030.
- GONZALEZ, I., GRANT, K.A., RICHARDSON, P.T., PARK, S.F., COLLINS, M.D. (1997). Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J. Clin. Microbiol.* **35**:759-763.
- GORMAN, R., ADLEY, C.C. (2004). An evaluation of five preservation techniques and conventional freezing temperatures of -20°C and -85°C for long term preservation of *Campylobacter jejuni*. *Let. Appl. Microbiol.* **38**:306-310.
- GRANT, K.A., PARK, S.F.(1995). Molecular characterization of *katA* from *C. jejuni* and generation of a catalase deficient. *Microbiol.* **141**:1369-1376.
- GREGORY, E., BARNHART, D.W., DREESON, N.J., STERN, N.J., CORN, J.L. (1997). Epidemiological study *Campylobacter* spp. in broilers source, time of colonisation and prevalence. *Avian. Dis.* **41**:890-898.
- GRIEG, J. R. (2003). Quinolone resistance in *Campylobacter*. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**:740-742.
- GÜLMEZ, M. (1999). *Campylobacter jejuni* izolasyonunda bazı kültürel tekniklerin karşılaştırılması ve tavuk etlerinde termofilik *Campylobacter*'lerin araştırılması. Doktora Tezi. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- HAKKINEN, M., SCHNEITZ, C. (1999). Efficacy of a commercial competitive exclusion product against *Campylobacter jejuni*. *Brit. Poult. Sci.* **40**:619-621.
- HARNETT, E., KELLY, L., NEWELL, M., WOLLDRIDGE, M., GETTINBY, G. (2001). A quantitative risk assessment for the occurrence of *Campylobacter* in chickens. *Epidemiol. Infect.* **127**:195-206.
- HARRISON, W. A., GRIFFITH, C. J., TENNANT, D., PETERS, A.C. (2001). Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. *Let. Appl. Microbiol.* **33**: 450-454.
- HAZELEGER, W.C., BEUMER, M.M., ROMBOUTS, F.M. (1992). The use of agglutination tests for determining *Campylobacter* species. *Let. Appl. Microbiol.* **14**:181-184.
- HAZELEGER, W.C., JANSE, J.D., KOENRAAD, P.M., BEUMER, R.R., ROMBOUTS, F.M., ABEE, T. (1995) Temperature-dependent membrane fatty acid and cell physiology changes in coccoid forms of *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 2713–2719.
- 87
- HAZELEGER, W.C., WOUTERS, J.A., RPMBUTS, F.M., ABEE, T. (1998). Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:3917-3922.
- HERMAN, L., HEYNDRIKX, M., GRIJSPEERDT, K., VANDEKERCHOVE, D., ROLLIER, I., ZUTTER, L.D. (2003). Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.* **131**: 1169-1180.
- HOLLANDER, R. (1983). In vitro activity of 23 chemotherapeutic agents against *Campylobacter jejuni/coli* strains isolated from feces. *Zbl. Bakt. Hyg.* **256**:196-201 In RADOSTITS, O. M. and RUBINSTEIN, E. (2002). The therapeutic use of fluoroquinolones in poultry. *Int. J. Infect. Dis.* **6**:49-52.
- HONG, Y., BERRANG, M.E., LIU, T., HOFACRE, C.L., SANCHEZ, S., WANG, L., MAURER, J.L. (2003). Rapid detection of *Campylobacter coli*, *C. jejuni* and *Salmonella enterica* on poultry carcasses by using PCR-ELISA. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 3492-3499.
- HOUNG, H.S.H., SETHABUTR, O., NIRDNOY, W., KATZ, D.E., PANG, D.E. (2001). Development of a *ceuE* based multiplex PCR assay for direct detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Thailand. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **40**: 11-19.
- HUDSON, J.A., NICOL, C., WRIGHT, J., WHYTE, R., HASELL, S.K. (1999). Seasonal variation of *campylobacter* types from human cases, veterinary cases, raw chicken, milk and water. *J. Appl. Microbiol.* **87**:115-124.
- HUMPHREY, T.J., CRUICKSHANK, J.G. (1985). Antibiotic and deoxycholate resistance in *Campylobacter jejuni* following freezing or heating. *J. Appl. Bacteriol.* **59**: 65–71.

- HWANG, C.A, BEUCHAT, L.R. (1995). Efficacy of lactic acid sodium benzoate wash solution in reducing bacterial contamination of raw chicken. *Int. J. Food Microbiol.* **26**:91-98.
- ICMSF. (1998). International Commission on Microbial Specifications of Foods. Micro-organisms in foods. 6th Microbial ecology of food commodities. London: Blackie Academic and Professional. In: LAKE, R., HUDSON, A., CRESSEY, P., NORTJE, G. (2003). Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in poultry (whole and pieces). Erisim Adresi: <http://www.esr.cri.nz> Erisim Tarihi: 28.07.2005.
- ISHIHARA, K., KIRA, T., OGIBUKO, K., MORIOKA, A., KOJIMA, A., KIJIMA-TANAKA, M., TAKAHASHI, T., TAMURA, Y. (2004). Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food producing animals on farms (1999-2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Int. J. Antimicrobiol. Agent.***24**:63-69.
- JACOBS-REITSMA, W. (1995). *Campylobacter* in breeder flocks. *Avian Dis.* **39**:355-359.
- JAIN, D., SINHA, S., PRASAD, K.N., PANDEY, C.M. (2005). *Campylobacter* species and drug resistance in a north Indian rural community. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **99**:207-214.
- JOFENSEN, M.H., LÜBECK, P.S., AALBÆK, B., HORFAR, J. (2003). Preston and Park-Sanders protocols adapted for semi-quantitative isolation of thermotolerant *campylobacters* from chicken rinse. *Int. J. Food Microbiol.***80**: 117-183.
- JONES, F.S., ORCUTT, M., LITTLE, R.B. (1931) Vibrios (*Vibrio jejuni* n.sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. *J. Exp. Med.* **53**: 853–864. In BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.***10**:868-876.
- 88
- JONES, D.M., SUTCLIFFE, E.M., FOX, A.J. CURRY, A. (1991a). Recovery of viable but nonculturable *Campylobacter jejuni*. *J. Gen. Microbiol.* **137**: 2477–2482.
- JONES, F.T., AXTELL, R.C., RIVES, D.V., SCHEIDELER, S.E., TARVER J.R., WALKER, R.L., WINELAND, M.J. (1991b). A survey of *Campylobacter jejuni* contamination in modern broiler production and processing systems. *J. Food Prot.* **54**: 259-262.
- JONES, D.M., SUTCLIFFE, E.M., RIOS, R., FOX, A.J. CURRY, A. (1993) *Campylobacter jejuni* adapts to aerobic metabolism in the environment. *J. Med. Microbiol.* **38** :145–150.
- JØRGENSEN, F., BAILEY, R., WILLIAMS, S., HENDERSON, P., WAREING, D.R.A., BOLTON, F.J., FROST, J.A., WARD, L., HUMPREY, T.J. (2002). Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.* **76**:151-164.
- KAZWALA, R.R.; COLLINS, J.D.; HANNAN, J.; CRINION, R.A.; O'MAHONY, H. (1990). Factors responsible for the introduction and spread of *Campylobacter jejuni* infection in commercial poultry production. *Vet. Rec.* **126**:305-6.
- KEENER, K.M., BASHOR, M.P., CURTIS, P.A., SHELDON, B.W., KATHARIOU, S. (2004). Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Comp. Rev. Food Sci Food Safety.* **3**: 105-116.
- KELLY, A.F., PARK, S.F., BOVILL, R., MACKAY, B.M. (2001). The survival of *Campylobacter jejuni* during stationary phase: evidence for the absence of a phenotypic stationary phase response in *C. jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 248–2254.
- KERAMAS, G., BANG, D.D., LUND, M., MADSEN, M., BUNKENBORG, H., TELLEMAN, P., CHRINSTENSEN, C.B.V. (2004). Use of culture, PCR analysis, and DNA microarrays for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from chicken feces. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 3985-3991.
- KETLEY, J.M. (1997). Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol.* **143**:5-21.
- KOTHARY, M.H., BABU, U.S. (2001) Infective dose of foodborne pathogens in volunteers: A review. *J. Food Safety* **21**: 49-73.
- KRAMER, J.M., FROST, J.A., BOLTON, F.J., WAREING, D.R.A. (2000). *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J. Food Prot.* **12**: 1654-1659.
- LAKE, R., HUDSON, A., CRESSEY, P., NORTJE, G. (2003). Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in poultry (whole and pieces). Erisim Adresi: <http://www.esr.cri.nz> Erisim Tarihi: 28.07.2005.
- LAWSON, A.J., LOGAN, M.J., O'NEILL, G.L., DESAI, M., STANLEY, J. (1999). Large-scale survey of *Campylobacter* species in human gastroenteritis by PCR and PCR-ELISA. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 3860-3864.
- LAZARO, B., CARCAMO, J., AUDICANA, A., PERALES, I., FERNANDEZ-ASTORGA, A.

(1999). Viability and DNA maintenance in nonculturable spiral *Campylobacter jejuni* cells after long-term exposure to low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**:4677–4681.

LILJA, L., HANNINEN, M.L. (2001). Evaluation of commercial automated ELISA and PCR method for rapid detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *C.coli* in poultry products. *Food Microbiol.* **18**:205-209.

89

LINDBLAD, M., HANSSON, I., VAGSHOLM, I., LINDQVIST, R. (2006). Postchill *Campylobacter* prevalence on broiler carcasses in relation to slaughter group colonization level and chilling system. *J. Food Prot.* **69**:495-499.

LINTON, D., KARLYSHEV, A.V., HITCHEN, P.G., MORRIS, H.R., DELL, A., GREGSON, N.A. (2000). Multiple N-acetyl neurominic acid synthetase (*neuB*) genes in *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol.* **35**:1120-1134.

LIOR, H., WOODWARD, D.L., EDGAR, J.A. (1982). Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *J. Clin. Microbiol.* **15**: 761–768.

LOEWEN, C., HU, B., STRUTINSKY, J., SPARKLING, R. (1998). Regulation in the *rpoS* regulon of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* **44**:707–717.

LUND, M., NORDENTOFT, S., PEDERSEN, K., MADSEN, M. (2004). Detection of *Campylobacter* spp. in chicken fecal samples by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* **42**:5125-5132.

MADDEN, R.H., MORAN, L., SCATES, P. (1998). Frequency of occurrence of *Campylobacter* spp. in red meats and poultry in Northern Ireland and their subsequent subtyping using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA method. *J. Appl. Microbiol.* **84**:703-708.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. (2003). Amplifying the DNA: The Polymerase Chain Reaction. *Biology of Microorganisms*. S:312-314. Pearson Education Inc. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ07458. USA.

MANFREDA, G., DE CESARE, A., BONDIOLI, V., STERN, N.J., FRANCHINI, A. (2006). Enumeration and identity of *Campylobacter* spp. in Italian broilers. *Poult. Sci.* **85**:556-562.

MARYHOFER, S., PAULSEN, P., SMULDERS, F.J.M., HILBERT, F. (2004). Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *Int. J. Food Microbiol.* **97**:23-29.

MCDONALD, S. D., GRUSLIN, A. (2001). A review of *Campylobacter* infection during pregnancy: A Focus on *C. jejuni*. *Prim. Care Update Ob/Gyns.* **8**:253-257.

MCFADYEAN J, STOCKMAN S. (1913). Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into Epizootic Abortion. III. Abortion in Sheep. London: HMSO, 1913. In BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**:868-876.

MCPHERSON, M.J., MØLLER, S.G. (2000). PCR: The basics from background to beyond. BIOS Scientific Publisher Limited. Oxford, UK. Sayfa 3-5.

MEDEMA, J., SCHETS, F.M., VAN DE GIESSEN, A.W., HAVELAAR, A.H. (1992). Lack of colonization of 1 day old chicks by viable, non-culturable *Campylobacter jejuni*. *J. Appl. Bacteriol.* **72**: 512–516.

MELA, D. J. (1999) Food choice and intake: the human factor. Symposium on 'Functionality of nutrients and behaviour'. *Proceed. Nutri. Soci.* **58**: 513–521.

MELDRUM, R.J., TUCKER, D., EDWARDS, C. (2004). Baseline rates of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw chicken in Wales, United Kingdom, in 2002. *J. Food Protect.* **67**: 1226-1228.

MELDRUM, R.J., SMITH, R.M.M., WILSON, I.G. (2006). Three year surveillance program examining the prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in whole retail raw chicken. *J. Food Prot.* **69**:254-261.

90

MIWA, N., TAKEGAHARA, Y., TERAJ, K., KATO, H., TAKEUCHI, T. (2003). *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni* negative flocks during processing in a Japan slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.* **84**:105-109.

MOHRAN, Z.S., ARTHUR, R.R., OYOFO, B.A., PERUSKI, L.F., WASFY, M.O., ISMAIL, T.F., MURPHY, J.R. (1998). Differentiation of *Campylobacter* isolates on the basis of sensitivity to boiling water as measured by PCR- detectable DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:363-365.

MORAN, A.P., UPTON, M.E. (1987). Factors affecting production of coccoid forms by *Campylobacter jejuni* on solid media during incubation. *J. Appl. Bacteriol.* **62**: 527–537.

MORRIS, G.K., SHERBEENY, M.R., PATTON, C.M., KODAKA, H., LOMBARD, G.L.,

- EDMONS, P., HOLLIS, D.G., BRENNER, D.J. (1985). Comparison of four hippurate hydrolysis method for identification of thermophilic *Campylobacter* spp. *J. Clin. Microbiol.* **22**:714-718.
- MOSSEL, D.A.A. (1985). Media for *Campylobacter jejuni* and other campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.* **2**: 119-122.
- MUSGROVE, M.T., BERRANG, M.E., BYRD, J.A., STERN, N.J., COX, N.A. (2001). Detection of *Campylobacter* spp. in ceca and crops with or without enrichment. *Poult. Sci.* **80**:825-828.
- NACHAMKIN, I., UNG, H., LI, M. (2002). Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. *Emerg. Infect. Dis.* **8**:1501-1503.
- NAYAK, R., STEWART, T.M., NAWAZ, M. (2005). PCR identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by partial sequencing of virulence genes. *Mol. Cellular Prob.* **19**:187-193.
- NEWELL, D.G. and FEARNLEY, C. (2003). Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**:4343-4351.
- NEWELL, D.G., NACHAMKIN, I. (1992). Immune responses directed against *Campylobacter jejuni*: In *Campylobacter jejuni* current status and future trends. Pp201-206. Edited by: NACHAMKIN, I., BLASSER, M.J., TOMPKINS, L.S. American Society for Microbiology. Washington D.C In KETLEY, J.M. (1997). Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol.* **143**:5-21.
- NG, L.K., KINGOMBE, I.B., YAN, W., TAYLOR, D.E., HIRATSUKA, K., GARCIA, M.M. (1997). Specific detection and confirmation of *Campylobacter jejuni* by DNA hybridisation and PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**:4558-4563.
- NIELSEN, E. M., NIELSEN, N. L. (1999). Serotypes and typability of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from poultry products. *Int. J. Food Microbiol.* **46**: 199-205.
- NIELSEN, M.E., ENGBERG, J., MADSEN, M. (1997). Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C.coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **19**:47-56.
- ON, S. L.W., JORDAN, P.J. (2003). Evaluation of 11 PCR assays for species level identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 330-336.
- ONO, K., YAMAMOTO, K. (1999). Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *Int. J. Food Microbiol.* **47**:211-219.
- 91
- OOSTEROM, J. DE WILDE, J. A., DE BOER, E., DE BLAAUW L. H., KARMAN, H. (1983). Survival of *Campylobacter jejuni* during poultry processing and pig slaughtering. *J. Food Prot.* **46**: 702.
- OSANO, O., ARIMI, S.M. (1999). Retail poultry and beef as sources of *Campylobacter jejuni*. *East African Med. J.* **76**:141-143.
- OYOFO, B.A., THORNTON, S.A., BURR, D.H., TRUST, T.J., PAVLOVSKIS, O.R., GUERRY, P. (1992). Specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* **30**:2613-2619.
- OZDEMIR, H., YILDIRIM, Y., KOLUMAN, A. (2005). Trisodyum fosfatın kanatlı göğüs derisine tutunmuş *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi. 29 Eylül – 1 Ekim 2004. Ankara.
- ÖZDEMİR, H., SIRELİ, U.T., EROL, I. (2004). Piliç kesimhanelerinde kesimin işleminin değişik aşamalarında *Campylobacter jejuni* kontaminasyonunun belirlenmesi. I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi. 29 Eylül – 1 Ekim 2004. Ankara.
- PALMER, S.R., GULLY, P.R., WHITE, J.M., PEARSON, A.D., SUCKLING, W.G., JONES, D.M., RAWES, J.C., PENNER, J.L. (1983). Water borne *Campylobacter* gastroenteritis. *Lancet.* **1**:287-290.
- PAMUK, S. (2006). Afyon’da paketlenmeden satılan piliç karkaslarında termofilik *Campylobacter* türlerinin saptanması ve *C. jejuni* izolatlarının PCR ile doğrulanması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- 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
- PARKHILL, J., WREN, B.W., MUNGALL, K., KETLEY, J.M., CHURCHER, C., BASHAM, D., CHILLINGWORTH, T., DAVIES, R.M., FELTWELL, T., HOLROYD, S., JAGELS, K., KARLYSHEV, A.V., MOULE, S., PALLENS, M.J., PENN, C.W., QUAIL, M.A., RAJANDREAM, M-A., RUTHERFORD, K.M., VAN VLIET, A.H.M., WHITEHEAD, S., BARRELL, B.G. (2000). The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter*

jejuni reveals hypervariable sequences. *Nature*. **403**: 665-668.

PEARSON, A.D., GREENWOOD, M., HEALING, D., ROLLINS, D., SHAHAMAT, M., DONALDSON, J., COLWELL, R.R. (1993). Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**:987-996

PEARSON, A.D., GREENWOOD, M., HEALING, D., ROLLINS, D., SHAHAMAT, M., DONALDSON, J., 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.

PENNER, J.L., HENNESSY, J.N. (1980). Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* on the basis of heat-stable antigens. *J. Clin. Microbiol.* **12**:732-737.

PESCI, E.C., COTTLE, D.L., PICKET, C.L. (1994) Genetic, enzymatic, and pathogenic studies of the iron superoxide dismutase of *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.* **62**: 2687-2695.

PHADTARE, S., ALSINA, J., INOUE, M. (1999). Cold-shock response and cold-shock proteins. *Curr. Opin. Microbiol.* **2**:175-80.

PIGRAU, C., BARTOLOME, R., ALMIRANTE, B., PLANES, A.M., GAVALDA, J., PAHISSA, A. (1997). Bacteremia due to *Campylobacter* species. *Clin. Infect. Dis.* **25**:1414-1425.

92

PIGRAU, C., ALMIRANTE, B., PAHISSA, A., BARTOLOME, R. (1996). *Campylobacter* bacteremia in AIDS patients. *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **12**:93-95.

POULSEN, C.R., EL-ALI, J., NIELSEN, I.R.P., BANG, D.D., TELLEMAN, P., WOLFF, A. (2005). Detection of a putative virulence *cadF* gene of *Campylobacter jejuni* obtained from different sources using a microfabricated PCR chip. *J. Rapid Met. Automation Microbiol.* **13**: 111-126.

PURDY, D., PARK, S.F. (1994) Cloning, nucleotide sequence, and characterisation of a gene encoding superoxide dismutase from *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Microbiol.* **140**:1203-1208.

PURDY, D., CAWTHRAW, S., DICKINSON, J.H., NEWELL, D.G., PARK, S.F. (1999) Generation of a superoxide dismutase-deficient mutant of *Campylobacter coli*: evidence for the significance of SOD in *Campylobacter* survival and colonization. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**:2540-2546.

PURNELL, G., MATTICK, K., HUMPREY, T. (2004). The use of "hot wash" treatments to reduce the number of pathogenic and spoilage bacteria on raw retail poultry. *J. Food Eng.* **62**:29-36.

RADOSTITS, O. M. and RUBINSTEIN, E. (2002). The therapeutic use of fluoroquinolones in poultry. *Int. J. Infect. Dis.* **6**:49-52.

RAMABU, S.S., BOXALL, N.S., MADIE, P., FENWICK, S.G. (2004). Some potential sources of *Campylobacter* transmission from broilers. *Lett. Appl. Microbiol.* **39**:252-256.

RAUTELIN, H., JUSUFOVIC, J., HANNINEN, M.L. (1999). Identification of hippurate negative thermophilic campylobacters. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **35**:9-12.

RAUTELIN, H., RENKONEN, O.V., KOSUNEN, T.U. (1991). Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni/coli* in subjects from Finland. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**:2065-2069.

RAUTELIN, H., VIERIKKO, A., HANNINEN, M.L., VAARA, M. (2003) Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* species isolated from Finnish subjects domestically or from those infected abroad. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**:102-105.

REES, C.E., DODD, C.E., GIBSON, P.T., BOOTH, I.R., STEWART, G.S.A.B. (1995) The significance of bacteria in stationary phase to food microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* **28**: 263-275.

REFREGIER-PETTON, J., ROSE, N., DENIS, M., SLAVAT, G. (2001). Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler chicken flocks at the end of rearing period. *Prev. Vet. Med.* **50**: 89-100

RIVOVAL, K., DENIS, M., SALVAT, G., COLIN, P., ERMEL, G. (1999). Molecular characterization of the diversity of the *Campylobacter* spp. Isolates collected from a poultry slaughterhouse: analysis of cross contamination. *Lett. Appl. Microbiol.* **29**:370-374.

ROBINSON, D.A. (1981). Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *Br. Med. J. (Clin Res Ed)*. **16**:1584.

ROLLINS, D.M., COLWELL, R.R. (1986). VBNC state of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 531-538

ROMANIUK, P.J., ZOLTOWSKA, B., TRUST, T.J., LANE, D.J., OLSEN, G.J., PACE, N.R., STAHL, D.A. (1987). *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human

gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *J. Bacteriol.* **169**:2137-41.

93

- ROOP, R.M., SMIBERT, R.M., KRIEG, S.M. (1984). Improved biotyping schemes for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Clin. Microbiol.* **20**: 990-992.
- ROSZAK, D.B. GRIMES, D.J., COLWELL, R.R. (1984) Viable but nonrecoverable stage of *Salmonella enteritidis* in aquatic systems. *Can. J. Microbiol.* **30**: 334-338.
- SAHA, S.K., SAHA, S., SANYAL, S.C. (1991) Recovery of injured *Campylobacter jejuni* cells after animal passage. *Appl. Environ. Microbiol.* **57** : 3388-3389.
- SALEHA, A.A. (2002). Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* from broiler chickens in Malaysia. *Int. J. Poult. Sci.* **1**:94-97.
- SAVASÇI, M. (2005). Marketlerde satılan piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- SEBALD, M., VERON, M. (1963). Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Ann. Inst. Pasteur.* **105**: 897-910.
- SHREEVE, J.E., TOSZEGKY, M., RIDLEY, A., NEWELL, D.G. (2002). The carry over of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks. *Avi. Dis.* **46**: 378-385.
- SKIRROW, M.B. (1977) *Campylobacter* enteritis: a 'new' disease. *Br. Med. J.* **2**: 9-11. In CORRY, J.E.L., POST, D.E., COLIN, P., LASINEY, M.J. (1995). Culture media for the isolation of campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.* **26**:43-76.
- SLANDER, J., DOMINGUE, F., JORGENSEN, K., MC ALPINE, R.J., OWEN, R.J., BOLTON, F.J., HUMPREY, T.J. (2002). Impact of transport crate reuse and catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 713-719.
- SLUTSKER, L., ALTEKRUSE, S.F., SWERDLOW, D.L. (1998). Food borne diseases: emerging pathogens and trends. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **12**:199-216.
- SMITH, T. (1919). The etiological relation of Spirilla (*Vibrio fetus*) to bovine abortion. *J. Exp. Med.* **30**:313-323. In BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**:868-876.
- SMITH, T., TAYLOR, MS. (1919). Some morphological and biological characters of Spirilla (*Vibrio foetus* n.sp.) associated with disease of fetal membranes in cattle. *J. Exp. Med.*, **30**: 299-311. In BUTZLER, J.P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**:868-876.
- SOPWITH, W., ASHTON, M., FROST, J.A., TOCQUE, K., O'BRIEN, S., REGAN, M., SYED, Q. (2003). Enhanced surveillance of *Campylobacter* infection in the North West of England 1997-1999. *J. Epidemiol. Infect.* **46**: 35-45.
- SOUTHERN, J.P., SMITH, R.M., PALMER, S.R. (1990). Bird attack on milk bottles: possible mode of transmission of *Campylobacter jejuni* to man. *Lancet.* **336**:1425-1427.
- SPSS (2005) Statistical Analysis Package Program. Reference Number:9024147. SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor Chicago, Illinois 60606.
- STACKEBRANDT, E., GOEBEL, B.M. (1994) Taxonomic note: a place for DNA&DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species designation in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **44**: 846-849.

94

- STANLEY, K.N., WALLACE, J.S., CURRIE, J.E., DIGGLE, P.J., JONES, K. (1998). Seasonal variation of thermophilic campylococci in lambs at slaughter. *J. Appl. Microbiol.* **84**: 1111-1116.
- STERN, N.J., KAZMI, S.U. (1989). *Campylobacter jejuni*.
Erisim adresi: <http://griffin.peachnet.edu> Erisim tarihi: 08.04.2004
- STERN, N.J. (1995). Influence of Season and refrigerated storage on *Campylobacter* spp. contamination of broiler carcasses. *J. Appl. Poultry Res.* **4**: 235-238.
- STERN, N.J., CRAY, P.F., BAILEY, J.S., COX, N.A., CRAVEN, S.E., HIETT, K.L., MUSGROVE, M.T., LADELY, S., COSBY, D., MEAD, G.C. (2001). Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *J. Food Prot.* **11**:1705-1710.
- SURETTE, M.G., MILLER, M.B., BASSLER, B.L. (1999) Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**: 1639-1644.
- SVEDHEM, A., KAIJSER, B., SJORGEN, E. (1981). Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolated from humans with diarrhoea and from healthy chickens. *J. Antimicrob. Chemother.* **7**: 301-305 in RADOSTITS, O. M. and RUBINSTEIN, E. (2002). The therapeutic

use of fluoroquinolones in poultry. *Int. J. Infect. Dis.* **6**:49-52.

TALIBART, R., DENIS, M., CASTILLO, A., CAPPELLIER, J.M., ERMEL, G. (2000). Survival and recovery of viable but noncultivable forms of *Campylobacter* in aqueous microcosm. *Int. J. Food Microbiol.* **55**: 263-267.

TAYLOR, D.N., MCDERMOTT, K.T., LITTLE, J.R., WELLS, J.G., BLASER, M.J. (1983). *Campylobacter* enteritis from untreated water in the Rocky Mountains. *Appl. Environ. Microbiol.* **28**:123-125.

THOLOZAN, J.L., CAPPELLIER, J.M., TISSIER, J.P., DELATTRE, G., FEDERIGHI, M. (1999). Physiological characterization of viable-but-nonculturable *Campylobacter jejuni* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**:1110-1116.

THOMPSON CJ, BETTELHEIM KA. (1989) Applications of a new method for devising bacteriological serotyping schemes. *J. Clin. Microbiol.* **27**:2391-2.

THRELFALL, E. J. (2004). Response to correspondence from Professor Radostits. *Int. J. Infect. Dis.* **8**:190-192.

TRACHOO, N. (2003). *Campylobacter jejuni*: An emerging pathogen. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **25**:141-157.

TRACHOO, N., FRANK, J. F. and STERN, N. J. (2002). Survival of *Campylobacter jejuni* in biofilms isolated from chicken houses. *J. Food Prot.* **65**:1110-1116.

TRACHOO, N, FRANK, J.F. (2002). Effectiveness of chemical sanitizers against *Campylobacter jejuni* containing biofilms. *J. Food Prot.* **65**: 1117-1121.

UYTTENDALE, M., DE TROY, P., DEBEREVE, J. (1999). Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.* **62**:735-740.

UYTTENDALE, M., DEBEREVE, J. (1996). Evaluation of Preston medium for detection of *Campylobacter jejuni* invitro and artificially contaminated poultry products. *Food Microbiol.* **13**: 115-122.

95

UYTTENDALE, M., SCHUKKINK, B., VAN GEMEN, B., DEBEREVE, J. (1996). Comparison of the nucleic acid system NASBA and agar isolation for detection of pathogenic campylobacters in naturally contaminated poultry. *J. Food Prot.* **59**:683-687.

VAN DE GIESSEN, A.W., TILBURG, J.J.H.C., RITMEESTER, W.S., VAN DER PLAS, J. (1998). Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect.* **121**:57-66.

VAN NIEROP, W., DUSE, A.G., MARAIS, E., AITHMA, N., THOTHOBOLO, N., KASSEL, M., STEWART, R., POTGIETER, A., FERNANDES, B., GALPIN, J.S., BLOOMFIELD, S.F. (2005). Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *Int. J. Food Microbiol.* **99**: 1-6.

VANDAMME, P., DE LEY, J. (1991) Proposal for a new family, Campylobacteraceae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**: 451-455.

VANDERLINDE, P.B., SHAY, B., MURRAY, J. (1998). Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.* **61**:437-443.

VELLINGA, V., VAN LOCK, R. (2001). The dioxin crisis as experiment to determine poultry related *Campylobacter* enteritis. *Emerg. Inf. Dis.* **8**: 19-22.

VOGT, R.L., SOURS, H.E., BARETT, T., FELDMAN, R.A., DICKINSON, R.J., WITHERELL, L. (1982). *Campylobacter* enteritis associated with contaminated water. *Ann. Intern. Med.* **96**:292-296.

WAEGEL, A., NACHAMKIN, I. (1996). Detection and molecular typing of *Campylobacter jejuni* in fecal samples by polymerase chain reaction. *Mol. Cell. Prob.* **10**: 75-80.

WAINØ, M., BANG, D.D., LUND, M., NORDENTOFT, S., ANDERSEN, J.S., PEDERSEN, K., MADSEN, M. (2003). Identification of campylobacteria isolated from Danish broilers by phenotypic tests and species specific PCR assays. *J. Appl. Microbiol.* **95**: 649-655.

WANG, G., CLARK, C., TAYLOR, T.M., PUCKNELL, C., BARTON, C., PRICE, L., WOODWARD, D.L., RODGERS, F.G. (2002). Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subs. *fetus*. *J. Clin. Microbiol.* **40**:4744-4747.

WEBER, R. (2000). Prüfung wechselseitiger Hemmeffekte verschiedener *Campylobacter jejuni*-Stämme bei der Kolonisation des Hühndarmes. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

WEGMÜLLER, B., LÜTHY, J., CANDRIAN, U. (1993). Direct PCR detection of *C. jejuni* and

- C.coli* in raw and dairy products. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**:2961-2965.
- WHYTE, P., MC GILL, K., COWLEY, D., CARROLL, C., DOOLAN, I., O'LEARY, A., CASEY, E., COLLINS, J.D. (2003). A comparison of two culture media for the recovery of thermophilic campylobacters in broiler farm samples. *J. Microbiol. Met.* **54**:367-371.
- WHYTE, P., MC GILL, K., COWLEY, D., MADDEN, R.H., MORAN, L., SCATES, P., CARROLL, C., O'LEARY, A., FANNING, S., COLLINS, J.P., Mc NAMARA, E., MOORE, J.E., CORMICAN, M. (2004). Occurrence of *Campylobacter* in retails foods in Ireland. *Int. J. Food Microbiol.* **95**: 111-118.
- WILLIS, W.L., MURRAY, C. (1997). *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poult. Sci.* **76**: 314-317.
- 96
- WONG, T., DEVANE, M.L., HUDSON, J.A., SCHOLLES, P., SAVILL, M.G., KLENA, J.D. (2004). Validation of a PCR method for *Campylobacter* detection on poultry packs. *British Food J.* **106**: 642-650
- YARDIMCI, H., ERDEGER, J., AKAN, M., YILDIRIM, M. (2002). Civcivlerin deneyisel *Campylobacter* infeksiyonunda kolonizasyon, translokasyon ve antikor yanıtı. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* **26**:1367-1374.
- YILDIRIM, G. (1995). Istanbul ve yöresinde satısa sunulan hazır tavuk etleri ve ürünlerinde *Campylobacter jejuni* saptanması üzerine izolasyon ve identifikasyon çalışmaları. Doktora Tezi. Istanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- YILDIRIM, R. (2005). Piliç karacigerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- YILDIZ, A., DIKER, S.K. (1992). *Campylobacter* contamination in chicken carcasses. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* **16**: 433-439.
- YU, L. S. L., UKNALIS, J., TU, S. (2001). Immunomagnetic separation methods for the isolation of *Campylobacter jejuni* from ground poultry meats. *J. Immunol. Met.* **256**:11-18.
- YUKI, N. (2001). Infectious origins of and molecular mimicry in Guillain Barré and Fischer syndromes. *Lancet.* **1**:29-37.
- YUKI, N., ANG, C.W., KOGA, M. (2000). Clinical features and response to treatment in Guillain Barré Syndrome associated with antibodies to GM1B ganglioside. *Ann. Neurol.* **47**:314-321.
- YUKI, N., YOSHINO, H., SATO, S., MIYATAKE, T. (1990). Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM1 antibodies following *Campylobacter jejuni* enteritis. *Neurol.* **40**:1900-1902.
- ZANETTI, F., VAROLI, O., STAMPI, S., DE LUCA, G. (1996). Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.* **33**: 315-321.
- ZHAO, C., GE, B., DE VILLENA, J., SUDLER, R., YEH, E., ZHAO, S., WHITE, D. G., VAGNER, D., MENG, J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the Greater Washington, D.C. area. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**:5431-5436.

97

Özgeçmiş

Kisisel Bilgi

Ad-Soyad: Ahmet Koluman

Doğum Tarihi: 30.01.1977

Doğum Yeri: Mardin

Eğitimi _zmir Murat Reis _lkokulu

Adana Anadolu Lisesi (Y.Dil: _ngilizce)

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim

Dalı Doktora Programı

Yayımlar

Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey.

Özlem Küplülü, Muammer Göncüoğlu, Haydar Özdemir and **Ahmet Koluman**

(2006) *Journal of Food Control* 17: 222-224

Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* on beef.

Haydar Özdemir, Yeliz Yıldırım, Özlem Küplülü, **Ahmet Koluman**, Muammer Göncüoğlu and

Gökhan_nat

(2006) *Journal of Food Control* 18:299-303

Effects of acidified sodium chlorite, cetylpyridinium chloride and hot water on populations of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on beef.

Haydar Ozdemir, **Ahmet Koluman**, Yeliz Yıldırım

Letters in Applied Microbiology. (Basım Asamasında)

Effects of acidified sodium chlorite and trisodium phosphate on populations of *Campylobacter jejuni*.

Haydar Ozdemir, Ali Gücükoglu, **Ahmet Koluman**

Journal of Food Protection and Preservation. (Basım Asamasında)

Salmonella'ların piliç karkaslarından kültür tekniği ve immüno manyetik PCR ile karşılaştırmalı olarak saptanması

Irfan Erol, Ahmet Yurtyeri, Goetz Hildebrandt, Josef Kleer, F. Seda Ormancı, **Ahmet Koluman**

I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyenistleri Kongresi Teblig Kitabı syf: 29-38

Laktik asit ve sıcak su uygulamalarının sığır etlerinde *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi.

Haydar Özdemir, Yeliz Yıldırım, Özlem Küplülü, **Ahmet Koluman**, Muammer Göncüoğlu, Gökhan_nat

I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyenistleri Kongresi Teblig Kitabı syf: 75-82

Trisodyum fosfatın kanatlı göğüs derisine tutunmuş *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi.

Haydar Özdemir, Yeliz Yıldırım, **Ahmet Koluman**

I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyenistleri Kongresi Teblig Kitabı syf: 203-211