

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANATLI ETLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLER
KULLANILARAK *CAMPYLOBACTER* SPP.‘NİN
İZOLASYONU VE İZOLATLARIN MULTİPLEX
POLİMERASE CHAIN REACTION‘LA İDENTİFİKASYONU**

**Hazırlayan
Aytuğ BARIŞ**

**Danışman
Prof.Dr.Fuat AYDIN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ekim 2011
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANATLI ETLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLER
KULLANILARAK *CAMPYLOBACTER* SPP.‘NİN
İZOLASYONU VE İZOLATLARIN MULTIPLEX
POLIMERASE CHAIN REACTION‘LA İDENTİFİKASYONU**

**Hazırlayan
Aytuğ BARIŞ**

**Danışman
Prof.Dr.Fuat AYDIN**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TSY-10-3086 nolu proje ile desteklenmiştir.**

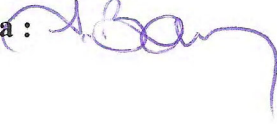
**Ekim 2011
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Aytuğ BARIŞ

İmza :



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kanathı Etlerinden Farklı Yöntemler Kullanılarak *Campylobacter* spp.’nin İzolasyonu Ve İzolatların Multiplex Polimerase Chain Reaction’la İdentifikasyonu” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

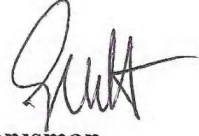
Tezi Hazırlayan

Aytuğ BARIŞ



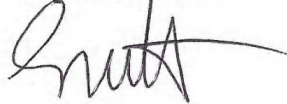
Danışman

Prof.Dr. Fuat AYDIN



Anabilim Dalı Başkanı

Prof.Dr.Fuat AYDIN



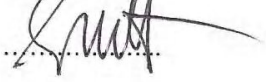
Prof.Dr.Fuat AYDIN danışmanlığında **Aytuğ BARIŞ** tarafından hazırlanan “**Kanath Etlerinden Farklı Yöntemler Kullanılarak *Campylobacter* spp.’nin İzolasyonu ve İzolatların Multiplex Polymerase Chain Reaction’la İdentifikasyonu**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / / 2011

JÜRİ

Danışman : Prof.Dr.Fuat AYDIN

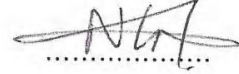
İmza



Üye : Yrd. Doç. Dr. Seçil ABAY



Üye : Yrd. Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde rehberlik eden danışman hocam Prof. Dr. Fuat AYDIN'a, tez dönemim boyunca çalışmalarımı yönlendirmemde, araştırmalarımda bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek bana destek olan Yrd. Doç. Dr. Seçil ABAY'a, tezimin yazımı esnasındaki yardımlarından dolayı Araş. Gör. Harun HIZLISOY'a, ilgi ve desteklerinden dolayı tüm mesai arkadaşlarıma, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan eşim Hilal BARIŞ'a ve yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

**KANATLI ETLERİNDEN FARKLI YÖNTEMLER KULLANILARAK
CAMPYLOBACTER SPP.'NİN İZOLASYONU VE İZOLATLARIN MULTIPLEX
POLIMERASE CHAIN REACTION'LA İDENTİFİKASYONU**

Aytuğ BARIŞ

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ekim 2011

Danışman: Prof.Dr. Fuat AYDIN

KISA ÖZET

Bu çalışmada, Kayseri ilindeki süpermarketlerde paketlenmiş olarak tüketime sunulan tavuk etlerinde; *Campylobacter* spp. türlerinin farklı kültür teknikleri (mCCDA agar, CAT agar ve filtrasyon) kullanılarak prevalansının araştırılması, kültür tekniklerini karşılaştırarak en verimli izolasyon yönteminin belirlenmesi, identifiye edilen izolatların mPCR(multipleks Polymerase Chain Reaction) ile doğrulanması ve elde edilen verilere göre tavuk etlerinin gıda ve insan sağlığı açısından taşıdığı risk düzeyinin tespit edilmesi amaçlandı. Yedi farklı firmadan alınan 25'er adet tavuk but eti, göğüs eti, kanat eti ve karkas olmak üzere toplam 100 adet tavuk eti örneği gereç olarak kullanıldı.

Tüm örneklerin mCCDA besiyeri ve CAT besiyeri kullanarak 87'sinden (% 87), kanlı mCCDA besiyeri kullanarak filtrasyon yöntemiyle 52'sinden (% 52) termofilik *Campylobacter* izole edilmiştir. Her üç yöntem ile 295 termofilik *Campylobacter* izolatu elde edilmiştir. İzolatların % 37,9'u (112/295) mCCDA besiyerinden, % 39,6'sı (117/295) CAT besiyerinden, % 22,3'ü (66/295) filtrasyon yöntemiyle elde edilmiştir. mPCR ile mCCDA besiyerindeki 112 izolatın 78'i (% 69,7) *C. jejuni*, 34'ü (% 30,3) *C. coli*, CAT besiyerindeki 117 izolatın 85'i *C. jejuni* (% 72,6), 32'si *C. coli* (% 27,4), filtrasyon ile elde edilen 66 izolatın 55'i *C. jejuni* (% 83,3), 11'i *C. coli* (% 16,7) olarak identifiye edilmiştir.

Termofilik *Campylobacter* türlerinin büyük çoğunluğu direkt ekim yöntemi uygulanan mCCDA ve CAT besiyerinden elde edilmiştir. İzolasyon oranının CAT besiyerinde, mCCDA besiyerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak bu iki besiyeri arasındaki farkın izolasyon oranı açısından önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Gıda hijyeni ve halk sağlığı için önem arz eden *Campylobacter* kaynaklı infeksiyonların önlenmesinde, tavuk eti ve ürünlerinin üretiminden tüketimine kadar tüm aşamalarda gıda güvenliği sistemlerinin uygulanmasının, üretimde teknolojik koşullarının geliştirilmesinin ve mutfak, personel ve alet-ekipman hijyenine dikkat edilmesinin uygun olacağı değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Campylobacter*, Tavuk Eti, mPCR.

**ISOLATION OF *CAMPYLOBACTER* SPP. FROM POULTRY MEATS BY USING
DIFFERENT METHODS AND IDENTIFICATION OF ISOLATES WITH MULTIPLEX
POLIMERASE CHAIN REACTION**

Aytuğ BARIŞ

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Microbiology

M.Sc. Thesis, October 2011

Supervisor: Prof.Dr. Fuat AYDIN

ABSTRACT

In this study, was aimed that to investigate of the prevalance of *Campylobacter* spp. species by using different culture techniques (mCCD agar, CAT agar and filtration method), determination of the most efficient isolation method by comparing culture techniques, confirmation of identified isolates with mPCR and according to the data obtained from chicken meat in terms of food and human health to determine the level of risk, chicken meat which were packaged available for consumption supermarkets in Kayseri. A total of one hundred chicken meat samples that contain 25 chicken legs, wings, breasts and chicken carcass which were purchased from seven from seven different firms, used specimen.

Thermophilic *Campylobacter* were isolated 87% of all the samples by using mCCD agar and CAT agar, 52% of all the samples by using mCCD agar with filtration method. 295 thermophilic *Campylobacter* isolates were detected with all three methods. 37,9% (112/295) of isolates from mCCD agar 39,6% (117/295) of isolates from CAT agar, 22,3% (66/295) of isolates from filtration method were obtained. 112 isolates were identified as 78 *C. jejuni* (69,7%) and 34 *C. coli* (30,3%) in mCCD agar, 117 isolates were identified as 85 *C. jejuni* (72,6%) and 32 *C. coli* (27,4%), 66 isolates were identified as 55 *C. jejuni* (% 83,3) and 11 *C. coli* (% 16,7) with mPCR.

The majority of thermophilic *Campylobacter* species were obtain from mCCD agar and CAT agar which are aplied direct plating. It was detected that the isolation rate in CAT agar was more than mCCD agar, however, it was statictically assigned that the variation between these two plates is not important about isolation rate. Prevention of *Campylobacter* source infection, the foof safety in all stages of chicken meat and products from production to consumption, developments of technical requirements of production and pay attention to kitchen stuff and tools-equipments hygiene are thought to be appropriate food hygiene and public health.

Keywords: *Campylobacter*, Chicken meat, mPCR.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK	I
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	II
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	III
KABUL ONAY SAYFASI	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
KISALTMALAR.....	XI
TABLO, ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ	XIII
 1. GİRİŞ VE AMAÇ	 1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TARİHÇE	4
2.2. TAKSONOMİ.....	5
2.3. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN MORFOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ	 8
2.3.1. Morfolojik Özellikleri	8
2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri	8
2.3.3. Fizyolojik Özellikleri.....	9
2.4. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN GIDALARDA GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	 10
2.4.1. Sıcaklık	10
2.4.2. Sodyum Klorür (NaCl) Konsantrasyonu ve pH Değeri.....	10
2.4.3. Rutubet ve Su Aktivitesi.....	10
2.4.4. Oksijen Duyarlılığı.....	11
2.4.5. Rekabetçi Flora	11
2.4.6. Işınlama	11
2.4.7. Kimyasal İnhibitörler.....	11
2.4.7.1 Klorin, Klorindioksit ve Diğer Klorin Türevleri	11
2.4.7.2. Laktik asit.....	11

Sayfa no

2.5. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN GIDALARDA CANLI KALMALARINI SAĞLAYAN ÖZELLİKLERİ	12
2.6. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN STRES TOLERANS MEKANİZMALARI..	13
2.7. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN VİRÜLENS FAKTÖRLERİ	13
2.7.1. Kemotaksis ve Motilite.....	14
2.7.2. Adezyon.....	14
2.7.3. Toksin	14
2.7.4. İnvazyon ve İntraselüler Yaşayabilme Özelliği	14
2.7.5. Demir İhtiyacı	14
2.7.6. LPS (Lipopolisakkarit) ve LOS (Lipooligosakkarit).....	15
2.8. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ	15
2.9. <i>CAMPYLOBACTER</i> İNFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	16
2.10. <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. İNFEKSİYONLARI	18
2.10.1. İnsanlarda Campylobacteriosis	18
2.10.2. Evcil ve Vahşi Hayvanlarda Campylobacteriosis	19
2.11. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU	19
2.11.1. Kanatlı Eti ve Ürünlerinde <i>Campylobacter</i> Türlerinin Varlığı	19
2.11.2. Kırmızı Et ve Et Ürünlerinde <i>Campylobacter</i> Türlerinin Varlığı	20
2.11.3. Süt ve Süt Ürünlerinde <i>Campylobacter</i> Türlerinin Varlığı.....	21
2.11.4. Su ve Su Ürünlerinde <i>Campylobacter</i> Türlerinin Varlığı.....	21
2.12. KORUNMA VE KONTROL	22
2.13. <i>CAMPYLOBACTER</i> TÜRLERİNİN İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONU.....	22
2.13.1. Klasik Kültür Teknikleri.....	22
2.13.2. İmmunolojik Teknikler.....	23
2.13.3. Hızlı Teknikler	23
2.13.3.1. Polymerase Chain Reaction (PCR)	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. GEREÇ	25
3.2. <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONUNDA KULLANILAN BESİYERLERİ, SUPPLEMENT VE DİĞER KİMYASALLAR	26
3.2.1. Modified Charcoal Cepheparazone Desoxycholate (mCCD) Agar	26
3.2.2. CAT Supplement İçeren mCCDA Besiyeri	27
3.2.3. Kanlı mCCDA Besiyeri	27

	<u>Sayfa no</u>
3.2.4. Kanlı Agar Besiyeri.....	28
3.2.5. Brucella Broth Besiyeri	28
3.2.6. Triple Sugar Iron (TSI) Agar Besiyeri.....	29
3.2.7. Katalaz Test Ayracı.....	29
3.2.8. Oksidaz Test Kiti.....	29
3.2.9. Hippurat Test Ayracı	29
3.2.10. Membran Filtreler	30
3.2.11. Mikroaerobik Ortam Kitleri	30
3.3. MULTİPLEKS PCR TEKNİĞİNDE KULLANILAN MALZEMELER	30
3.3.1. Primer Çiftleri	30
3.3.2. TBE solüsyonu.....	31
3.3.3. Ethidium Bromide	31
3.3.4. Agaroz jel	31
3.3.5. Standart Suşlar	31
3.4. YÖNTEM.....	32
3.4.1 <i>Campylobacter</i> spp.nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	32
3.4.2. İdentifikasyon	34
3.4.2.1. Gram Boyama ve Mikroskopik Muayene	34
3.4.2.2. Hareketlilik Testi	34
3.4.2.3. Katalaz Testi	34
3.4.2.4. Oksidaz Testi.....	34
3.4.2.5. Hippurat Hidroliz Testi.....	34
3.4.2.6. H ₂ S Oluşumu.....	34
3.4.2.7. 30°C'de Üreme Özelliği	34
3.5. <i>CAMPYLOBACTER</i> İZOLATLARININ MUHAFAZASI	35
3.6. <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. İZOLATLARININ PCR TEKNİĞİ İLE DOĞRULANMASI.....	35
3.6.1.DNA Ekstraksiyonu	35
3.6.2.Multipleks PCR Uygulaması	35
3.6.3.Elektroforez	36
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	36
4. BULGULAR	37
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	48
6.KAYNAKLAR	54
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AhpC	: Alkil hidroperoksit redüktaz
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Bp	: Baz çifti
CAT	: Cephoperazone Amphotericin Teicoplanin
CDT	: Cytolethal Distending Toxin-Sitoletal Distending Toksin
<i>ceuE</i>	: Demir baglama geni
CJT	: <i>Campylobacter jejuni</i> toksini
CLT	: Cholera-like toksin
CSA	: <i>Campylobacter</i> Selective Agar
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoxyribonucleotide triphosphate
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
GMP	: Good Manufacturing Practices-İyi Üretim Uygulamaları
GBS	: Guillain-Barré Sendromu
<i>glyA</i>	: Serine hydroxymethyltransferase
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points - Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları
HeLa	: Henrietta Lacks
<i>hipO</i>	: Hippurate hydrolase
IMC-FPCR	: Immunomagnetic Capture - Fluorescent PCR
ISO	: International Organization for Standardization - Uluslararası Standardizasyon Ofisi
kDa	: Kilodalton
kGy	: Kilo Gray
LOS	: Lipooligosakkarit
LPS	: Lipopolisakkarit
mCCDA	: Modifiye Charcoal Cephoperazone Desoxycholate Agar
MFS	: Miller Fisher Sendromu
mPCR	: Multipleks PCR

NDSC	: National Disease Surveillance Centre - Uluslararası Hastalık Araştırma Merkezi
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar
Mm	: Milimolar
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction - Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PHLS	: Halk Sağlığı Laboratuvar Servisi
PFGE	: Pulsed Field Gel Electrophoresis
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
RNA	: Ribonükleik Asit
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBE	: Tris-Borik asit – EDTA
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TPS	: Tamponlanmış Peptonlu Su
TSI	: Triple Sugar Iron Agar
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
VBNC	: Viable but nonculturable - Canlı fakat kültüre edilemeyen
WHO	: World Health Organization - Dünya Sağlık Örgütü

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Ülkemizde yıllara göre tavuk eti üretimi.....	2
Tablo 2.1. <i>Campylobacter</i> cinsinde yer alan tür ve alt türler ile meydana getirdiği hastalıklar.....	6
Tablo 2.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	9
Şekil 2.1. <i>Campylobacter</i> 'lerin bağırsak epitel hücreğine geçiş aşamaları.	15
Şekil 2.2. <i>C. jejuni</i> 'nin konakta enfeksiyona neden olan virülens faktörleri ile gıda, hayvanlar ve çevredeki yaşam siklusu	16
Şekil 2.3. Yaş gruplarına göre <i>Campylobacter</i> Enfeksiyonlarının İnsidensi.....	17
Tablo 2.3. <i>C.jejuni</i> izolasyonunda kullanılan antibiyotikler ve etkileri	23
Tablo 3.1. Tavuk Eti Örneklerinin Alındığı Firmalar ve Örnek Sayıları.	25
Tablo 3.2. Termofilik <i>Campylobacter</i> İzolasyonunda kullanılan Besiyerleri ve Supplementler....	26
Tablo 3.3. <i>Campylobacter</i> Blood-Free Selective Agar Base Besiyeri İçeriği	27
Tablo 3.4. mCCD Agar Selektif Supplement İçeriği.....	27
Tablo 3.5. Blood Agar Besiyeri İçeriği	28
Tablo 3.6. Brucella Broth Besiyeri İçeriği.....	28
Tablo 3.7. Triple Sugar Iron Agar Besiyeri İçeriği	29
Tablo 3.8. Sodyum Hippurat Solüsyonu İçeriği.....	30
Tablo 3.9. PCR'da kullanılan Malzeme Listesi	30
Şekil 3.1. Termofilik <i>Campylobacter</i> 'lerin izolasyon ve identifikasyon şeması.....	33
Tablo 4.1. Kültür tekniklerinden elde edilen <i>Campylobacter</i> spp. prevalansı.....	38
Tablo 4.2. Çalışmada kullanılan izolasyon yöntemleri ve izolatların tür düzeyinde dağılımı.....	38
Tablo 4.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının izolasyon yöntemlerine göre dağılımı.....	39
Tablo 4.4. Tavuk but etindeki termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre sayısal dağılımı.....	41
Tablo 4.5. Tavuk kanat etindeki termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre sayısal dağılımı.....	41
Tablo 4.6. Tavuk göğüs etindeki termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre sayısal dağılımı.....	42
Tablo 4.7. Tavuk karkas etindeki termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre sayısal dağılımı.....	42
Tablo 4.8. Kültür yöntemlerinden elde edilen <i>C. jejuni</i> ve <i>C. coli</i> izolatlarının örnek tiplerindeki sayısal dağılımı.....	45

Şekil 4.1.	Termofilik <i>Campylobacter</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre dağılımı	39
Şekil 4.2.	Kültür tekniklerinden elde edilen termofilik <i>Campylobacter</i> 'lerin sayısal dağılımı	40
Şekil 4.3.	Tavuk but eti örneklerinde <i>C. jejuni</i> ve <i>C. coli</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre yüzde dağılımı	43
Şekil 4.4.	Tavuk kanat eti örneklerinde <i>C. jejuni</i> ve <i>C. coli</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre yüzde dağılımı	43
Şekil 4.5.	Tavuk göğüs eti örneklerinde <i>C. jejuni</i> ve <i>C. coli</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre yüzde dağılımı	44
Şekil 4.6.	Tavuk karkas eti örneklerinde <i>C. jejuni</i> ve <i>C. coli</i> izolatlarının kültür tekniklerine göre yüzde dağılımı	44
Şekil 4.7	PCR ile ampfliye edilen ürünlerin %1,5'luk agaroz jeldeki görünimleri	47

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tavuk; uluslararası terminolojide “Kanatlı Eti” kavramı içinde geçmekte olup, bu kavramın içinde piliç, hindi, bıldırcın, ördek, kaz gibi hayvanların etleri de yer almaktadır. Tavuk etinin, kırmızı ete oranla daha az yağlı, protein değeri yüksek, vitamin ve mineral açısından zengin olmakla beraber fiyatının da daha ucuz olması nedenleriyle dünyada tüketimi giderek artmaktadır (1).

Bununla birlikte, dünyada kanatlı eti üretiminin 2/3’ünü oluşturan tavuk eti ve ürünlerinin tüketiminin artmakta olduğu bilinen bir gerçektir. İnsan beslenmesinde önemli bir yer tutan tavuk, hayvansal gıdalar arasında uygun bileşimi ve çevre koşulları nedeniyle patojen mikroorganizmaların gelişimi ve zoonoz hastalıklara yol açması bakımından önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Dünyanın çeşitli yerlerinden bildirilen epidemiyolojik raporlar, kanatlı etinin gıda kaynaklı salgınlardan en çok sorumlu olan besin maddesi olduğunu göstermiştir. İnsanlarda salgınların büyük bölümü genellikle *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens* ve *Staphylococcus aureus*’tan kaynaklanmaktadır (2,3).

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ise zoonotik enterik enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden birinin *Campylobacter* spp. olduğu bildirilmekle birlikte tüm dünyada *Campylobacter* türlerinin neden olduğu hastalıklar sonucu önemli ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (4).

Dünyada tavuk eti üretimi 2007 yılı verilerine göre 68,525 000 ton, 2009 yılında ise 72,293,000 tondur. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) verilerine göre Türkiye'deki tavuk eti üretimi de dünyadaki artışa paralel bir artış göstermiştir. Buna göre 2007 yılında üretim 1.059.483 ton iken, 2009 yılında 1.277.082 ton olmuştur (5,6).

Tablo 1.1. Ülkemizde yıllara göre tavuk eti üretimi

Üretim Yılı	Üretim Miktarı (Ton)
2000	639 342
2001	612 744
2002	694 060
2003	862 956
2004	866 862
2005	925 900
2006	910 226
2007	1 059 483
2008	1 069 696
2009	1 277 082

Campylobacteriosis dünyada yaygın olarak tüm yaş gruplarını etkileyen zoonotik bir hastalıktır ve *Campylobacter* türleri insanlarda akut gastroenterit oluşturmaktadır. Son yıllardaki tavuk eti üretiminin ve buna bağlı olarak tüketimin artması ile birlikte *Campylobacter* türlerine ait gastroenterit olgularında da bir artış meydana gelmiş ve araştırmacılar bu ilişkiyi tanımlamaya çalışmışlardır (7,8).

Campylobacter türleri, kanatlı bağırsak sisteminin doğal kaynağı olması nedeniyle üretim aşamaları sırasında karkas kontaminasyonuna yol açmaktadır. Bu sebeple kontamine kanatlı etleri veya bunların kontamine ettiği diğer gıdalar insanlar için en önemli infeksiyon kaynaklarını oluşturmaktadır (9)

Kanatlı hayvanların vücut sıcaklığının *Campylobacter* türleri için en uygun üreme sıcaklığı olan 42°C'ye yakın olması nedeniyle *Campylobacter* türleri kanatlı hayvanlarda daha yaygın bulunmaktadır (10).

Termofilik *Campylobacter* türleri olan *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* ve *Campylobacter upsaliensis*, üreme sıcaklıkları bakımından diğer *Campylobacter* türlerinden farklılık gösterir. Bu türler insanlarda ciddi gastroenteritlere yol açabildikleri gibi ölümlerle de sonlanabilen olgulara neden olabilmektedirler (11).

Bu çalışmada, Kayseri ilindeki süpermarketlerde taze olarak tüketime sunulan but eti, göğüs eti, kanat eti ve karkastan oluşan tavuk etlerinde;

- I. *Campylobacter* spp. türlerinin farklı kültür teknikleri kullanılarak prevalansının araştırılması,
- II. Kültür teknikleri arasında karşılaştırma yapılarak en iyi izolasyon yönteminin belirlenmesi ve izolatların mPCR ile doğrulanması,
- III. Elde edilen bilgiler doğrultusunda tavuk etlerinin gıda ve insan sağlığı açısından taşıdığı risk düzeyinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Campylobacter türleri, ilk kez 1886 yılında Theodor Escherich tarafından “Kolera Infantum” sonucu hayatını kaybeden çocukların dışkı örneklerinde tanımlanmıştır. 1913 yılında McFadyean ve Stockman, abort yapmış koyunlarda etkeni izole etmesi ile *Campylobacter* spp. kaynaklı infeksiyonlara ait ilk veriler elde edilmiştir (12). Smith ve Taylor (13) sığırlarda aborta neden olan bakteriyi mikroskopta spiral formda görünmesinden dolayı “*Spirillum*” olarak tanımlamıştır. Smith ve Taylor çalışma sonuçlarını McFadyean ve Stockman’ın sonuçları ile kıyaslayarak, her iki bakterinin de aynı olduğuna kanaat getirmişler ve bakteriyi *Vibrio fetus* olarak adlandırmışlardır. Jones ve ark (14), buzağı kış dizanterisi etkenini *Vibrio jejuni* olarak adlandırmışlardır. Daha sonra Doyle, domuz dizanterisi etkeninin de *V. jejuni* olduğunu bildirmiştir (12).

1938 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde çiğ süt tüketimine bağlı olarak toplam 335 kişide ishal ve karın krampları ile seyreden bir salgının meydana geldiği, etkenin ise *V. jejuni* olduğu bildirilmiştir. E.O.King ise ilk kez termofilik *Campylobacter* spp.’nin 42°C’de ürediğini ve insanlarda akut enteritise neden olduklarını bildirmiştir. Araştırmacı, *Campylobacter* spp.’nin morfolojik yapılarının *Vibrio* türlerine oldukça benzediğini ileri sürmüştür. Ayrıca sistemik infeksiyonlu hastaların kanlarından izole

edilen günümüzde *C. fetus* subsp. *fetus* olarak adlandırılan etkenin 42°C'de üreyemediğini, bununla birlikte diyareli örneklerden izole edilen “vibrios ilişkili” olarak tanımlanan mikroorganizmanın 42°C'de üreyebildiğini saptamıştır (15). Daha sonra yapılan çalışmalarda, dizanterili domuzlardan izole edilen *Vibrio* benzeri mikroaerofilik mikroorganizmaların *V. coli* olduğu ifade edilmiş ve 1956 yılında da tavuklarda *Vibrio*'ların hepatitisle bağlantısının ortaya çıkarıldığı bildirilmiştir (16).

2.2. TAKSONOMİ

Sebald ve Veron tarafından 1963 yılında Sitozin ve Guanin baz çiftlerinin oranına göre, DNA hibridizasyon yöntemi yardımıyla mikroaerofilik *Vibrio* 'lar *Campylobacter* olarak tanımlanmıştır. *Campylobacter* ile ilgili 4 tür bildirilmiştir. Bunlar, *C. fetus* spp. *fetus*, alt türü *C. fetus* spp. *veneralis*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. sputorum* ve 3 alt türü *C. bubulus*, *C. mucosalis* ve *C. concisus* olarak tanımlanmış ve Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de yer almıştır (17,18). Bakterilerin önceleri V rRNA süperfamilya grubu ile taksonomisi yapılırken, daha sonra rRNA süperfamilya VI Proteobacteria grubu oluşturulmuştur. Bu grubun içerisine yeni bir familya olan *Campylobacteraceae* dahil edilerek, *Arcobacter*, *Campylobacter*, *Wolinella* ve *Helicobacter* cinsleri bu familya içerisinde yer almıştır (19). 16S rRNA sekans analizi gibi yeni moleküler ve biyolojik metodların uygulanması ile 3 rRNA homolog grup oluşturularak *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Helicobacter* cinsleri *Campylobacteraceae* familyası içerisinde sınıflandırılmıştır (20).

Son yıllarda yürütülen çalışmalarda *Proteobacteria* grubuna bağlı epsilon alt grubu *Epsilonproteobacteria* içerisinde yer alan *Campylobacteraceae* familyasında *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Sulfurospirillum* cinslerinin bulunduğu ve *Campylobacter* cinsine ait 17 tür olduğu tespit edilmiştir. *Campylobacter* cinsinde yer alan tür ve alt türler ile meydana getirdiği hastalıklar Tablo 2.1'de gösterilmiştir (9).

Tablo 2.1. *Campylobacter* cinsinde yer alan tür ve alt türler ile meydana getirdiği hastalıklar (9)

Etken Adı	Kaynak	Meydana Getirdiği Hastalıklar	
		İnsan	Hayvan
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	İnsan, sığır, vahşi kuşlar, kanatlı, evcil hayvanlar	İshal, sistemik hastalıklar, GBS, Reaktif artrit	Diarrhea, abortus
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	İnsan	Diarrhea	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Sığır, koyun	Abortus, sistemik hastalıklar, Diarrhea	Abortus
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Sığır	Hastalık oluşturmaz	İnfertilite
<i>Campylobacter coli</i>	Domuz, kuslar, kanatlı, kedi	Diarrhea	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter lari</i>	Kuslar, köpek	Diarrhea	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Evcil hayvanlar, kanatlı	Diarrhea	Diarrhea
<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Sığır, domuz, hamster, geyik	Proktitis, ishal	Proliferatif enteritis
<i>Campylobacter hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Domuz	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter mucosalis</i>	Domuz	Diarrhea	Proliferatif enteritis
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>sputorum</i>	İnsan	Ağız hastalıkları, apseler	Genital sistem hastalıkları, koyunlarda abortus
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>paraureolyticus</i>	Sığır	Diarrhea	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter sputorum</i> biovar <i>faecalis</i>	Sığır, koyun	Hastalık oluşturmaz	Enteritis

Tablo 2.1. *Campylobacter* cinsinde yer alan tür ve alt türler ile meydana getirdiği hastalıklar (devamı)

Etken Adı	Kaynak	Meydana Getirdiği Hastalıklar	
		İnsan	Hayvan
<i>Campylobacter lanienae</i>	Domuz, Sığır	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter insulaenigrae</i>	Deniz Memelileri	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter hominis</i>	İnsan	Hastalık oluşturmaz	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter concisus</i>	İnsan	Ağız ve diş Hastalıkları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter curvus</i>	İnsan	Ağız ve diş hastalıkları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter rectus</i>	İnsan	Ağız ve diş hastalıkları, pulmoner infeksiyonlar	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter showae</i>	İnsan	Ağız ve diş hastalıkları	Hastalık oluşturmaz
<i>Campylobacter helveticus</i>	Köpek, kedi	Hastalık oluşturmaz	Diarrhea
<i>Campylobacter gracilis</i>	İnsan	Baş ve boyun hastalıkları	Hastalık oluşturmaz

2.3. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN MORFOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

2.3.1. Morfolojik Özellikleri

Campylobacter türleri Gram negatif, hareketli, 0,5-5 µm uzunluğunda, 0,2-0,9 µm genişliğinde, spor oluşturmeyen, spiral, S, martı kanadı ya da virgül formunda bakterilerdir. *Campylobacter*'ler monopolar ya da bipolar flagellaları sayesinde, tipik tirbüşon benzeri vidalama hareket özelliği gösterirler (15). Flagella uzunluğunun, tüm bakteri uzunluğunun 2 ya da 3 katı olabilmesi nedeniyle yüksek derecede bir motiliteye sahiptir. Ayrıca kamçısız ya da hareketsiz *Campylobacter* türleri olduğu da bildirilmiştir (18). *Campylobacter*'ler nem oranı düşük selektif katı besiyerlerinde küçük, düzgün, granüler tarzda, gri bazen de kahverengiden kurugül rengine değişen, parlak 1-2 mm çapında koloniler oluştururlar. Nem oranı yüksek besiyerlerinde ise, 10 mm'ye kadar ulaşabilen çapta, basık, yaygın, düzensiz kenarlı ve grimsi renkte koloniler meydana getirirler. Taze besiyerlerinde, koloniler yüksek nemden dolayı taşma eğilimindedir. Eski koloniler dumanımsı ve parlak metalik görünümündedir (18, 21).

2.3.2. Biyokimyasal Özellikleri

Campylobacter türleri selenit indirgeyen, indol negatif, katalaz ve sitokrom oksidaz pozitif bakterilerdir. Jelatin ve üreyi hidrolize edemezler, metil red ve Voges Proskauer negatiftir. Lipaz aktiviteleri olmayıp, nitratı indirgerler ve pigment oluşturmazlar. Yüksek miktarda sitokrom b ve c'ye sahiptirler (18, 20). Karbonhidratları oksidatif ve fermentatif olarak biyokimyasal reaksiyonlarda kullanamazlar. Termofilik *Campylobacter* türleri enerji gereksinimlerini glutamin, glutamik asit, asparjin ve aspartik asit gibi amino asitlerin yıkımından, trikarboksilik asit siklusunun ara ürünlerinden, hidrojenin oksidasyonundan ve fumarattan sağlarlar (18, 22).

Termofilik *Campylobacter* türlerinden ise sadece *C. jejuni*'nin hippuratu hidrolize ettiği, *C. coli*'nin H₂S üretme yeteneğinin zayıf olduğu bildirilmiştir. *C. jejuni* ve *C. coli* nalidiksik aside duyarlı ancak sefolotine dirençlidir (15, 16). *C. lari*, nalidiksik aside karşı dirençli olmasıyla diğer türlerden ayrılmaktadır (23).

2.3.3. Fizyolojik Özellikleri

Campylobacter türleri; zorunlu mikroaerofilik bakteriler olup, üremelerinde % 10 CO₂, % 5 O₂ ve % 85 N₂'a gereksinim duyarlar (15). *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* gibi insanlarda ishal oluşturan türler hem 37°C'de hem de 42°C'de üreyebilirler ve bu termofilik özellikleri sebebi ile diğer türlerden ayırt edilirler (23). Termofilik *Campylobacter* türleri olarak adlandırılan *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis* optimum üreme ısısı 42±1°C'dir. Bu sıcaklık derecesi aynı zamanda rekabetçi floranın baskılanmasını sağlar (24). *Campylobacter* türlerinin neden olduğu gastroenteritlerin hemen hemen tamamından termofilik türler sorumludur. Kültür plaklarının 42°C'de inkübasyonu ile dışkıda bulunan diğer *Campylobacter* türleri ve flora bakterilerinin üremesi baskılanırken termofilik türlerin izolasyonu kolaylaşmaktadır (25, 26). Termofilik *Campylobacter* türlerini birbirlerinden ayıran biyokimyasal özellikler Tablo 2.3'de gösterilmiştir (27).

Tablo 2.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin biyokimyasal özellikleri (27)

Tür	Oksidaz	Şeker Fermentasyonu	H ₂ S oluşumu	Hippurat Hidrolizi	%1 Glisin	25 C'de Üreme	37 C'de Üreme	42 C'de Üreme	Nalidiksit Asit	Sefolotin
<i>C. jejuni</i>	+	-	-	+	+	-	+	+	S	R
<i>C. coli</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	S	R
<i>C. lari</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	R	R

S: Sensitive-Duyarlı

R:Resistant-Dirençli

(-) : Negatif

(+) : Pozitif

2.4. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN GIDALARDA GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

2.4.1. Sıcaklık

Termofilik *Campylobacter* türleri optimum 42°C’de ürerken, 25°C’de üreyemezler, 48°C’de inaktive olurlar. Etkenin en yüksek ve en düşük gelişme sıcaklıkları ortamın oksijen, karbondioksit, nitrojen yoğunluğuna ve pH değerine göre değişkenlik göstermektedir. Uygun şartların varlığında 30-34°C’de 48 saatte, 34°C’nin üzerinde 12 saatte logaritmik üreme fazını tamamlamaktadır (23, 27). Termofilik *Campylobacter* türleri arasında patojenik spektrumu en geniş tür olan *C. jejuni*’nin optimal gelişme sıcaklığı 42-45°C arasında olup 30°C’nin altındaki sıcaklıklarda ürememektedir. Gelişmeleri için gerekli sıcaklık aralığı; ortamın oksijen, karbondioksit, nitrojen yoğunluğu ve pH değerine göre değişim gösterir (27).

Termofilik *Campylobacter* suşları 30°C altında ürememelerine rağmen güneş ışığı ile temasın olmadığı ve kimyasal dezenfektan içermeyen sularda ve gıdalarda 4°C’de bir hafta, -20°C’de üç ay, piliç etinde -18°C’de 2 ay, -20°C’de 12 hafta, -15°C’de 30 hafta canlılıklarını kaybetmediği belirtilmiştir. Bu türlerin büyük baş hayvanların yaşadıkları bataklıklarda 4°C’de 41 gün, 37°C’de 7 gün canlı kaldıkları bildirilmiştir (28).

2.4.2. Sodyum Klorür (NaCl) Konsantrasyonu ve pH Değeri

Termofilik *Campylobacter* türlerinin optimal 42°C’de % 0,5 düzeyindeki sodyum klorür konsantrasyonunda gelişmekte olduğu, etkenin % 1,5 ve üzeri sodyum klorür konsantrasyonunu tolere edemediği bildirilmiştir (29). *Campylobacter* spp.’nin üremesi için gerekli pH aralığının 4,9-9,5 olduğu, laboratuvar koşulların optimal pH değerinin 6,5-7,5 arasında değiştiği, 4,0’ün altındaki pH değerlerinde canlı kalamadıkları bildirilmiştir (30).

2.4.3. Rutubet ve Su Aktivitesi

Campylobacter spp.’nin gelişimi ve kültüre edilmeleri için gerekli olan optimum su aktivitesi değerinin 0,997 minimum su aktivitesinin ise 0,987 olduğu bildirilmiştir (31). Bakterinin kurumaya karşı yüksek duyarlılık gösterdiği ve su aktivitesi değeri 0,97’den düşük ortamlarda ancak kısa bir süre yaşayabildiği bildirilmiştir (16).

2.4.4. Oksijen Duyarlılığı

Campylobacter jejuni oksijene karşı aşırı duyarlılık gösterebilir bir bakteri olmasına rağmen, % 3-5 düzeyindeki oksijeni tolere edebildiği ve bazı suşlarının da % 21 düzeyindeki oksijene karşı tolerans gösterdiği bildirilmiştir (32). *Campylobacter* türlerinin sahip olduğu süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sayesinde oksijeni, hidrojen peroksit ve dioksijene çevirerek oksidatif strese karşı korundukları bildirilmiştir (33).

2.4.5. Rekabetçi Flora

Campylobacter türleri, besin öğelerince zengin kanlı agar ve selektif ögeleri içeren sıvı besiyerlerinde (Skirrow, Karmali, Preston ve Bolton) ve farklı antibiyotiklerin katılarak rekabetçi floranın baskılandığı (Charcoal Cephoperazone Deoxycholate agar) katı besiyerlerinde üremektedir (30).

2.4.6. Işınlama

Kanatlı karkasındaki 10^9 düzeyindeki *Campylobacter* spp.'nin yıkımlanması için 2,5-3 kGy dozundaki gama ışınının yeterli olduğu bildirilmiştir. *C. jejuni*'nin UV ışınına *E. coli* ve *Yersinia enterocolitica*'dan daha hassas olduğu ve 3,4-3,7 mW/cm² dozundaki UV ışınının 10 saniye süreyle çiğ piliç karkas yüzeyine uygulanmasıyla toplam *C. jejuni* miktarını 2 log düzeyde azalttığı bildirilmiştir (34).

2.4.7. Kimyasal İnhibitörler

2.4.7.1. Klorin, Klorindioksit ve Diğer Klorin Türevleri

Kanatlı eti üretim tesislerinde, karkas yıkama suyuna ilave edilen 25-50 ppm düzeyindeki klorinin karkas yüzeyindeki toplam *Campylobacter* spp. sayısını azalttığı, klorine maruz kalan birçok *Campylobacter* türünün subletal hasara uğradığı ve selektif besiyerlerinde üreyemediği saptanmıştır. Karkas yüzeyine tutunan bakteri sayısını azaltmak için kullanılan klorindioksitin klorinden daha etkili olduğu, bununla birlikte *Campylobacter* spp.'nin sitrik aside fosforik asitten çok daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (34).

2.4.7.2 Laktik asit

Karkas yüzeyine, 4°C'de spreyselinde uygulanan % 1,0-2,0'lik laktik asidin karkas yüzeyindeki *Campylobacter* türlerinin miktarını azalttığı fakat tamamen ortadan kaldırmadığı bildirilmiştir (35).

2.5. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN GIDALARDA CANLI KALMALARINI SAĞLAYAN ÖZELLİKLERİ

Campylobacter türleri olumsuz çevre koşullarında besin miktarı azaldığında veya yüksek oksijen konsantrasyonunda kültüre edilemeyen canlı form (Viable But Non Culturable-VBNC) fazına geçerler ve hareketli spiral formdan kokoid forma dönüşürler. VBNC formdaki bakteri canlı olmasına rağmen çoğalamaması nedeniyle klasik mikrobiyolojik yöntemlerle belirlenemez. Böyle bir durumda gıdada *Campylobacter* varlığı belirlenemediği halde enfeksiyon etmenini yüksek sayıda içirme olasılığı risk olarak görülmektedir (36). Kokoid forma dönüşen hücrelerde flagella oluşumu saptanmasına karşın, bu formun hareketsiz olduğu ifade edilmektedir. Bunun nedeni olarak hücrelerin metabolik faaliyetlerinin minimum düzeyde olması ve flagellar hareket için yeterli enerji sağlayamamaları gösterilmektedir (37).

Hücrelerin ekstraselüler polimerik madde içinde bir arada bulunması olarak tanımlanan biyofilm, bakterilerin olumsuz koşullarda canlı kalma şansını artırabilir. *Campylobacter* türleri su bulunan ortamlarda, paslanmaz çelik ve cam üzerinde biyofilm oluşturabilmektedirler (38).

Campylobacter türleri mikroaerofilik olmalarına rağmen normal atmosfer koşullarında biyofilm içinde uzun süre canlı kalabilmektedir. Biyofilm içinde mikro-çevre oluşturdıkları ve böylece yüksek konsantrasyondaki oksijenin toksik etkisinden korundukları düşünülmektedir (36).

Pek çok bakteride durağan faz veya açlığa giriş ile birlikte bakteriyi ısı şoku, oksidatif, ozmotik ve asit stresi gibi olumsuz koşullardan korumaya yarayan proteinler üretilmektedir. Ancak *C. jejuni*'de bu proteinlerin üretimi için gerekli genlerin bulunmadığı belirlenmiştir (39).

Kemotaksi ve aerotaksi özelliği, *Campylobacter* türlerinin besin maddesi veya oksijen konsantrasyonu bakımından daha iyi koşullara sahip ortamlara taşınmalarını sağlayacağından bu patojenin canlı kalmasında önemli rol oynayan özelliklerden biridir (40). Bakteriyel kemotaksi bir sinyal transdüksiyon sistemi olup, bu yolla bakteriler çevresel uyarıları algılayabilir ve flagella hareketi ile cevap verebilirler (41). Hava veya oksijenin uyarıcı olduğu kemotaksi türü olan aerotaksi özelliği, fakültatif anaerob olan birçok bakteride gözlenmiştir. *C. jejuni*'nin normal atmosfer koşullarında inkübe edilen yarı katı besiyerindeki tüplerde aerotaktik bantlar verdiği bildirilmiştir (23).

2.6. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN STRES TOLERANS MEKANİZMALARI

Campylobacter türlerinin yüksek sıcaklıklarda varlıklarını sürdürebilmek için sıcak şoku proteinlerini (heat shock protein) sentezlediği, bu proteinlerin aynı zamanda kolonizasyonda da rol oynadığı bildirilmektedir (42). Buna karşın etkenin soğuk şartlarda herhangi bir soğuk şoku proteini (cold shock protein) sentezlemediği, 30°C’de etkenin neden gelişemediğinin cevabının da bu şekilde açıklanabileceği bildirilmiştir. Ancak tüm bu mekanizmalar halen tam anlamıyla anlaşılamamıştır (39).

Campylobacter türleri mikroaerofilik olup, oksidatif stresle mücadele etmek ve oksijen metabolizmasının toksik bileşiklerinden kendilerini korumak zorundadırlar. Ancak, yüksek oksijen konsantrasyonuna duyarlı olmalarına rağmen gıdalarda canlılıklarını devam ettirerek enfeksiyona neden olabilirler (36). *Campylobacter* türlerinde, O₂, -H₂O₂ ve OH⁻ gibi reaktif oksijen derivatlarının inaktivasyonunda rol oynadıkları düşünülen SodB, katalaz (katA) ve alkilhidroksiperoksit redüktaz (AhpC) enzimlerinin bakteriyi oksidatif strese karşı koruduğu bildirilmiştir (27, 36).

Pek çok bakteride ozmotik basınca karşı direnç, uygun çözünür maddenin sentezi veya taşınması ile gerçekleşmektedir. Ancak *Campylobacter* türleri ozmotik basıncı dengeleyecek çözünür madde sentezleyemediklerinden bu strese oldukça duyarlıdırlar (43).

2.7. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN VİRÜLENS FAKTÖRLERİ

2.7.1. Kemotaksis ve Motilite

Campylobacter spp.’nin kimyasal maddeleri belirleme ve bakterinin bu maddelere doğru hareket edebilme fonksiyonuna sahip oldukları kaydedilmiştir. Moleküler düzeyde, *Campylobacter* spp.’nin kemotaksisinde tek regülasyonlu komponent olan *cheY* genindeki mutasyonların invazyon ya da motilite üzerine etkili olmadığı fakat in vitro ortamda kemotaksis kaybına neden olduğu saptanmıştır (44).

Campylobacter’lerin flagella ve spiral forma sahip oluşları ve bunun sonucunda farklı viskoz ortamlarda, diğer bakteri türlerine göre etkin şekilde hareketli oluşu, bağırsağın musin tabakasına girebilmesini ve üremesini sağlar (45). Musin tabakasının komponentleri olan L-Fruktoz, L-Serin, müsün ve safra sıvısının *Campylobacter* türleri

için pozitif kemotaksise neden oldukları, safra asidinin negatif kemotaksiste etkili olduğu bildirilmiştir (41).

2.7.2. Adezyon

Campylobacter türlerindeki adezinlerin varlığına yönelik olarak yapılan araştırmada, bağırsak epitel hücrelerine ve mukus tabakasına tutunabilirliği önceden bilinen, flagellalı, flagellasız ve flagellası hareketsiz hale getirilmiş *Campylobacter* suşlarından flagellalı olanların bağlanma kabiliyetinin yüksek olduğu, flagellası kısaltılan suşların bağlanma yeteneğinde azalma olduğu ve flagellasız suşların ise epitel hücrelerine ve mukus tabakasına bağlanamadığı saptanmıştır. Bunun bir sonucu olarak flagella bir adezyon faktörü olarak tanımlanmıştır (46).

2.7.3. Toksin

Campylobacter türlerinin, bilinen toksinleri olarak bir enterotoksin ve altı sitotoksin varlığı bildirilmiştir. Bu sitotoksinler; molekül ağırlığı 70 kDa olan HeLa hücreleri üzerinde toksik etkisi olan fakat Vero ve hayvan hücrelerine etkisi olmayan toksin, HeLa ve Vero hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olan toksin, sitoletal distending toksin (CDT), *Shigella* benzeri toksin, hemolitik etkili sitotoksin ve hepatotoksindir (47). Kolera toksinine benzemesi ve kolera antitoksini ile inaktive olması nedeniyle, bir enterotoksin olan *C. jejuni* toksini (CJT), cholera-like toksin (CLT) olarak tanımlanmıştır (48).

2.7.4. İnvazyon ve İntraselüler Yaşayabilme Özelliği

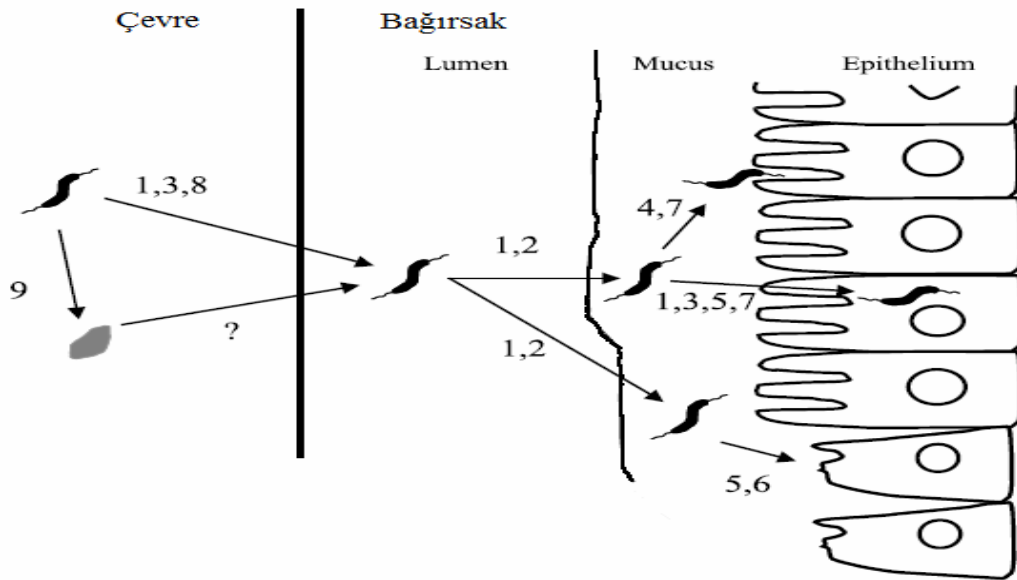
Yapılan çalışmalarda invazyon için flagellin A ya da aktif *Campylobacter*'lerin gerekli olduğu, invazyon mekanizmasında çok sayıda genin rol oynadığı ve invazyon için gerekli proteinlerin kodlandığı tespit edilmiştir (49).

2.7.5. Demir İhtiyacı

Campylobacter spp.'nin siderofor (düşük molekül ağırlığındaki demir bağlayıcı bileşikler) üretemedikleri, ancak eksojen sideroforları kullanabildikleri bildirilmiştir. *Campylobacter* spp.'nin *ceu* geni kodlanan, demir transport sistemi olarak adlandırılan ve invazyon sırasında önemli rol oynayan bir sisteme sahip olduğu bu sistemin bağırsak kanalındaki sideroforları yakalayarak, konağa ait demir bağlayıcı proteinleri taşıdığı saptanmıştır (50).

2.7.6. LPS (Lipopolisakkarit) ve LOS (Lipooligosakkarit)

C. jejuni LPS'ini oluşturan lipid A komponentinin endotoksik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Sistemik infeksiyonlarda meydana gelen sepsis ve şok durumlarının, LPS'in serbest kalmasıyla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (51). Şekil 2.1'de *Campylobacter* türlerinin infeksiyon aşamasında bağırsak epitel hücrelerine geçiş aşamaları gösterilmiştir (52).



Şekil 2.1. *Campylobacter* türlerinin bağırsak epitel hücrelerine geçiş aşamaları (52).

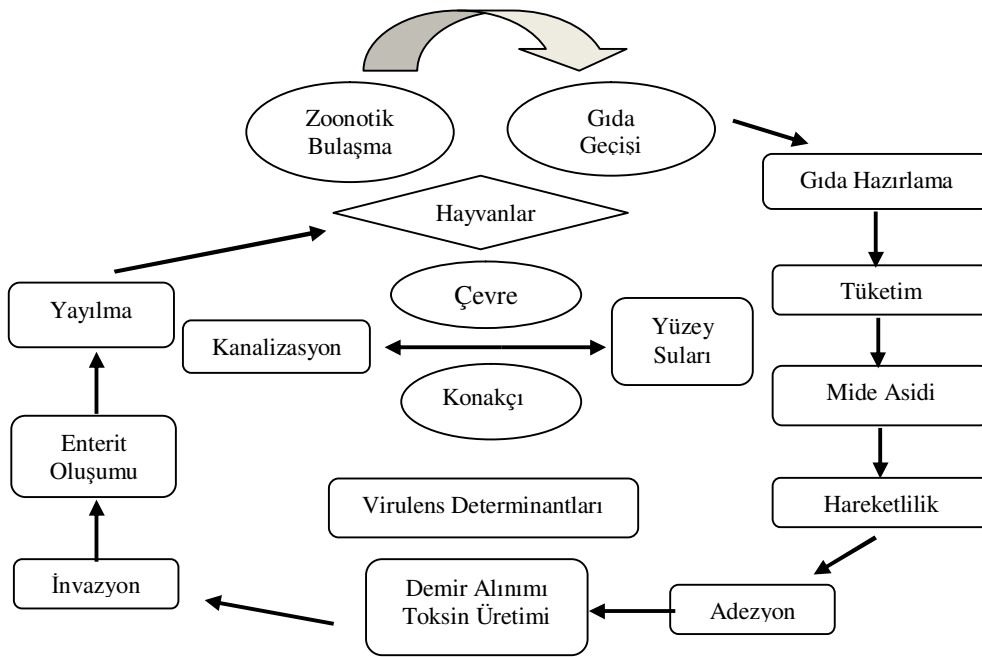
1- Motilite 2- Kemotaksis 3- Oksidatif savunma 4- Adezyon 5-İnvazyon 6-Toksin üretimi
7-Demir alınımları 8-Sıcaklık 9- Kokoid form 10- Vejatif form 11- Bağırsak epitelyum hücresi

2.8. *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ

Campylobacter türlerinde antibiyotik direncinin oluşumu kromozomlarda meydana gelen mutasyonlar sonucu ve antibiyotik direnç geni taşıyan plazmid veya transpozonların transferi yoluyla şekillenmektedir (53). *Campylobacter* türlerinin basitrasin, sefalotin, rifampin, streptogramin B, novobiosin, vankomisin, trimetoprim, gibi antibiyotiklere karşı doğal dirençli olduğu, tetrasiklin, minosiklin ve kloramfenikole karşı plazmid aracılığı ile transfer yoluyla, streptomisin, spektinomisin, ampisilin, eritromisin ve nalidiksik aside karşı kromozomal transfer yoluyla, kanamisine ise hem plazmidler hem de kromozomal transfer yoluyla direnç geliştirdiği bildirilmiştir (54).

2.9. *CAMPYLOBACTER* İNFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ

Toplumların gıda tüketim alışkanlıklarına, coğrafi ve demografik değişimlere, uluslararası hayvansal ürün ticaretine ve turizmin gelişmesine bağlı olarak *Campylobacteriosis* vakalarında büyük artış kaydedildiği görülmüştür. Mikrobiyolojik tanımlama metotlarındaki gelişimin de, infeksiyon etkeninin belirlenmesi bakımından kolaylık sağladığı kaydedilmiştir (54). Yapılan araştırmalarda *Campylobacter* infeksiyonlarının sporadik olarak sıcak ve nemli aylarda görüldüğü, Mayıs-Haziran-Temmuz aylarında ise pik yaptığı bildirilmiştir (55). Yaz aylarında infeksiyonlarda görülen bu artışın nedeninin, etkenin iklim şartlarına uyum sağlaması, yaz aylarındaki gıda tüketim alışkanlıkları, kuş hareketleri ve turizmde görülen hareketlilikten kaynaklandığı bildirilmiştir (54). *C. jejuni*'nin konakçıda infeksiyona neden olan virülens determinantları ile gıda, hayvanlar ve çevredeki yaşam siklusu Şekil 2.2'de gösterilmiştir (55).

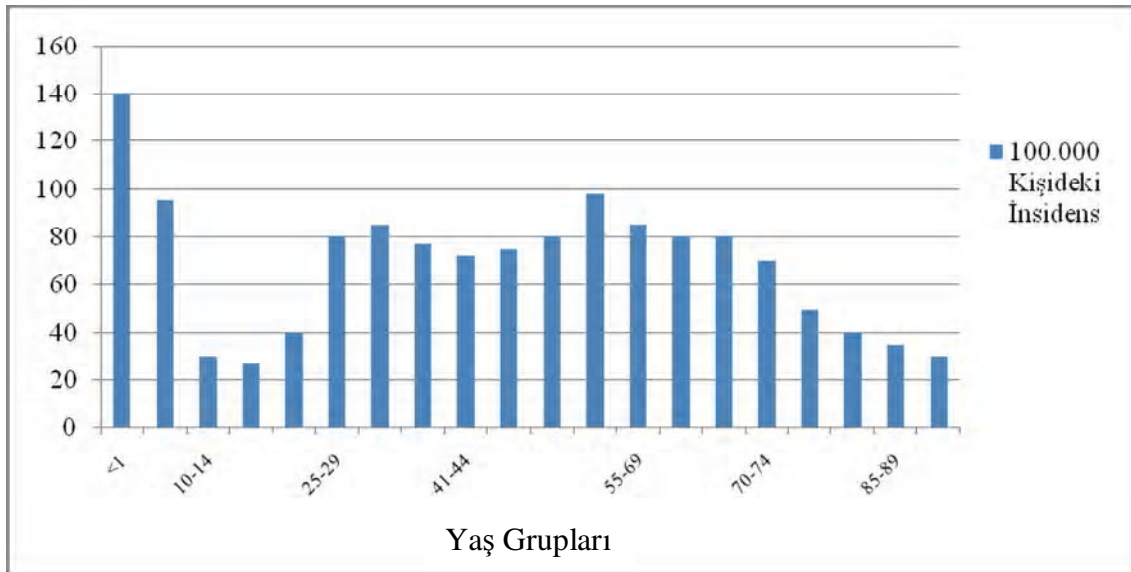


Şekil 2.2. *C. jejuni*'nin konakta infeksiyona neden olan virülens faktörleri ile gıda, hayvanlar ve çevredeki yaşam siklusu (55).

Dünyada, yıllık ortalama 10 milyon kişinin Kampilobakteriozis'e yakalandığı, bunun % 25'inin Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde, % 20'sinin Amerika Birleşik Devletleri'nde, % 5'inin ise Avustralya, Yeni Zelanda ve Japonya gibi Okyanus ötesi ülkeler de yaşadığı bildirilmektedir (56).

EFSA (Europe Food Safety Authority) tarafından yürütülen bölgesel bir araştırmada (57), AB pazarındaki tavuk karkaslarının yaklaşık % 80'inin *Campylobacter* ile bulaşık olduğunu göstermiştir. Otorite, araştırmanın bir ülke dışındaki tüm AB üye devletleri ve Norveç ve İsviçre'de yapıldığını, tavuk etinin insanlarda görülen gıda kaynaklı Kampilobakteriozis hastalığının önemli bir kaynağı ve AB üyesi ülkelerdeki tüketicilerinin bakteriye maruz kalmalarındaki en önemli etmen olduğunu bildirmiştir

İskoçya'da 2002 yılı boyunca her 100.000 bireyin 101'inde Kampilobakteriozis belirlenmiş, bu oranın aynı dönemde ABD'de 13, Kanada'da 37 ve Yeni Zelanda'da 232 kişi olduğu kaydedilmiştir (58). Dünya'da yaş gruplarına göre *Campylobacter* infeksiyonlarının insidensi Şekil 2.3'de gösterilmiştir (59).



Şekil 2.3. Yaş gruplarına göre *Campylobacter* infeksiyonlarının insidensi (59).

ABD'de yapılan bir epidemiyolojik çalışmada, 2000 yılında 12,390 gastroenteritis olgusunun 4,713'ünden termofilik *Campylobacter* türlerinin sorumlu olarak ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir (60). Avrupa Birliğinin 13 ülkesinden elde edilen verilere göre 1996-2001 yılları arasında toplam 156,323 Kampilobakteriozis vakası bildirilmiştir (61).

NDSC (National Disease Surveillance Center) verilerine göre (62), 1999-2000 yılları arasında *Campylobacter* insidensinin 44,5/100.000 ile 57,5/100.000 oranlarında olduğunu bildirmiştir. AB ülkelerinden İspanya'da insidensin 9,5/100.000 iken, İskoçya'da 108/100.000 oranında olduğu belirtilmiştir. Bundan dolayı *Campylobacter* türlerinin İskoçya'da gastroenteritis olgularında, en sık izole edilen bakteriler olduğu bildirilmiştir

Türkiye'de *Campylobacter* yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalardan alınan sonuçlar gelişmiş ülkelerin verilerine uymaktadır. Kampilobakteriozis sıklığının ülkemizde de azımsanmayacak oranda olduğu görülmektedir. Öztürk ve ark (63), İstanbul'da 1890 ishallerin 125'inin *Campylobacter* cinsi (% 6,6), Gültekin ve ark (64), Sivas yöresinde 231 ishallerin 12'sinde (% 4,7) oranında *Campylobacter* cinsi, Aktaş ve Tuncel (65), Erzurum'da 125 vakada % 8,8 oranında *C. jejuni*, Arslan (66), Sivas'ta yaptığı çalışmada 270 ishallerin 12'sinde (% 4,44), *Campylobacter* türlerini, Genç ve ark (67), Ankara'da 450 ishallerin 32'sinde (% 7,1) oranında *C. jejuni* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

2.10. CAMPYLOBACTER SPP. İNFEKSİYONLARI

2.10.1. İnsanlarda Kampilobakteriozis

Hastalık etkeni, insanlara direkt temas yoluyla ya da indirekt yolla bulaşmaktadır. Direkt bulaşmanın, insanların hasta hayvanlarla olan temasıyla, indirekt bulaşmanın ise yeterli ısı işlemi uygulanmamış kanatlı eti ve karaciğeri, sığır ve domuz eti, çiğ süt, kontamine yüzey suları, klorlanmamış içme suları ve gıdanın hazırlanması sırasındaki çapraz kontaminasyonlarla olduğu bildirilmiştir (10).

Termofilik *Campylobacter* türleri, insanlarda en sık olarak gastroenterite neden olurken, endokarditis, meningitis, pankreatitis, peritonitis, septik abort ve neonatal sepsis gibi ekstraintestinal bozukluklara da yol açarlar. Buna ilaveten, Guillain-Barré Sendromu (GBS), Miller Fisher Sendromu (MFS), hemolitik üremik sendrom, obstrüktif hepatit gibi komplikasyonlara da neden olurlar (68). *Campylobacter* türlerinin neden olduğu infeksiyonlarda, minimal infeksiyon dozu; *Campylobacter* suşlarının virülensi ve konakçının bağışıklık sistemine bağlı olarak değişmekle birlikte tüm bireylerde aynı semptomların ortaya çıkmadığı bildirilmiştir (69).

Campylobacter infeksiyonlarında inkübasyon süresinin 1-7 gün arasında değiştiği, hastalığın, ateş, baş ağrısı, eklem ağrısı, kas ağrısı ve bulantı gibi semptomlarla, daha sonra sulu-kanlı diyare ve abdominal ağrı ile karakterize enterite ve enterokolit tablosuna sahip olduğu bildirilmiştir (70).

Termofilik *Campylobacter* türlerinin insanlarda sebep oldukları infeksiyonların sadece basit bir enterokolit tablosu olmadığı, çocuklarda kanlı diyare ve hatta ölümlere neden olabileceği bildirilmiştir (71). Çoğu kez termofilik *Campylobacter* türlerinin neden olduğu infeksiyonları izlediği bilinen, Guillain Barre Sendromu'nun, akut inflamatuvar demyelinizan polinöropati ile karakterize kranial ve spinal sinirlerin köklerinin yangısal hastalığı olduğu bildirilmiştir (72). Guillain-Barre sendromu eklemlerde sertlik oluşturmada gelişen akut paralizin en yaygın sebepleri arasında ilk sırada yer almaktadır (73).

2.10.2. Evcil ve Vahşi Hayvanlarda Kampilobakterozis

Tavuk, hindi, ördek ve kaz gibi insan beslenmesinde önemli yeri olan evcil kanatlılar ile doğada serbest yaşayan kanatlı türlerinin *C. jejuni*'nin doğal rezervuarı olduğu ve kanatlılarda kommensal olarak bulunduğu bildirilmiştir (18). *Campylobacter* spp. infeksiyonlarında, horizontal bulaşma çok önemli bir rol oynamaktadır. Rodentlerin, insektlerin, pet hayvanlarının, intensif kanatlı yetiştiriciliğinin, su ve yem maddelerinin önemli infeksiyon kaynakları olduğu bildirilmiştir (10, 74).

2.11. CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU

2.11.1. Kanatlı Eti ve Ürünlerinde *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Whyte ve ark (75), 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.

Harrison ve ark (76) yaptıkları çalışmada, marketlerden alınan 55 piliç göğüs eti örneğinin % 82,0'sinin ve paketleme materyallerinin ise % 44'ünün termofilik *Campylobacter* ile kontamine olduğunu saptamışlardır.

Britanya adasında 1500 perakende satış noktasından Nisan, Mayıs ve Haziran dönemlerinde alınan 4886 piliç karkas örneğinin 2697'sinin (% 55,4) termofilik

Campylobacter türleri ile kontamine olduğu ve izole edilen 1636 *Campylobacter* suşundan 1210'unun (% 74,0) *C. jejuni* ve 421'inin (% 25,0) ise *C. coli* olduğu tespit edilmiştir (77).

Uyttendaele ve ark (78), Belçika'da satışa sunulan kanatlı karkas ve ürünlerinden oluşan 772 örnek üzerinden yaptıkları bir çalışmada, örneklerin % 28,5'inin *C. jejuni* ve *C. coli* ile kontamine olduğunu, derisi çıkarılmamış ürünlerdeki *Salmonella* spp., *C. jejuni* ve *C. coli* kontaminasyonunun derisi çıkarılmış ürünlere oranla daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Atanassova ve Ring (79), 111 piliç karkasının % 45,9 *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğunu ve karkaslardan elde ettikleri 47 izolatı (% 43) *C.jejuni* olarak izole ettiklerini kaydetmişlerdir.

Meldrum ve ark (80) 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 (81), 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

2.11.2. Kırmızı Et ve Et Ürünlerinde *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Kanatlı eti, *Campylobacter* infeksiyonları açısından risk grubu gıdaların başında yer almasına rağmen, koyun, sığır, domuz gibi evcil çiftlik hayvanlarının intestinal sistemlerinin termofilik *Campylobacter* türleri yönünden rezervuar olmaları bakımından bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin de infeksiyon açısından önem teşkil ettiği bildirilmiştir (82).

Kramer ve ark (83), İngiltere'deki marketlerden alınan kuzu, domuz ve sığır karaciğer örneklerinde sırasıyla; % 72,9, % 71,7 ve % 54,2 oranında *Campylobacter* türleri izole etmişlerdir.

Devane ve ark (84), 178 sığır, 162 koyun ve 187 domuz sakatatının sırasıyla, 16 (% 9,0), 69 (% 42,5) ve 18'inden (% 9,6) termofilik *Campylobacter* türlerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Whyte ve ark (75), İrlanda’da yapmış oldukları çalışmada 262 kuzu etinin 31’inde (% 11,8), 221 dana etinin 7’sinde (% 3,2) ve 197 domuz etinin 10’nunda (% 5,1) termofilik *Campylobacter* türleri izole ettiklerini bildirmişlerdir.

2.11.3. Süt ve Süt Ürünlerinde *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Termofilik *Campylobacter* türlerinin süt ve süt ürünlerinde bulunma oranı, diğer ürünlere göre oldukça düşük seviyede kalmaktadır. Süte bulaşmanın genellikle sağım esnasında fekal yolla olduğu, bazı olaylarda mastitisli hayvanların sütlerinden etken izole edilebileceği bildirilmiş olup, ancak yetersiz pastörizasyon uygulamaları veya daha sonra maruz kaldığı kontaminasyon neticesinde sütlerin *Campylobacter* türleriyle kontamine olabileceği bildirilmiştir (85).

PHLS (Public Health Laboratory Service) verilerine göre (86), İngiltere ve Galler’de 1995-1996 yılları arasında şişelenmiş çiğ sütlerde termofilik *Campylobacter* varlığına yönelik bir araştırmada, toplanan 985 örneğin % 6’sının *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğu bildirilmiştir.

Whyte ve ark (75), İrlanda’nın 3 farklı şehrindeki perakende satış noktalarından aldıkları 62 çiğ süt örneğinin 1’inden (% 1,6) termofilik *Campylobacter* türlerini izole ettiklerini, çiğ sütlerden yapılmış 66 peynir örneğinden etken izole edemediklerini bildirmişlerdir

2.11.4. Su ve Su Ürünlerinde *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Kanalizasyon sularında *Campylobacter* türlerinin bulunma oranı, bölgenin hayvan ve insan nüfusu yoğunluğu ile mevsimsel etkiye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. *Campylobacter* türlerinin atık sularda canlı kalabilmeleri için gerekli yaşam maddeleri ve oksijenin azlığı nedeniyle diğer mikroorganizmalara göre daha az canlı kalabildiği bildirilmiştir (87).

Termofilik *Campylobacter*’lerin düşük sıcaklık derecelerinde, yeterli klorlanmamış şehir şebeke sularında canlılıklarını uzun süre korudukları bildirilmiştir. Bu konuda yapılan bir çalışmada *C. jejuni*’nin 8-10°C’de 8 gün canlılığını sürdürdüğü belirtilmiştir. Yang ve ark (88), kaynak ve yüzey sularının *C. jejuni* ile kontaminasyon düzeyini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada her biri 75’er adet olmak üzere toplam 150 örneği analiz etmişler ve kaynak sularının % 8,0’inin, yüzey sularının % 19,3’ünün *C. jejuni* ile kontamine olduğunu saptamışlardır.

2.12. KORUNMA VE KONTROL

Avrupa Birliğine üye ülkelerde meydana gelen *Kampilobakterosis* vakalarının yıllık raporlar halinde bildirilmesi Avrupa Birliği 1999/72/EC sayılı Zoonozlar Direktifi uyarınca zorunlu kılınmıştır. Bu raporların hazırlanmasında, halk sağlığı hekimleri, veteriner hekimlerin, halk sağlığı ve çevre sağlığı personellerinin birlikte çalıştıkları bildirilmiştir (89). Termofilik *Campylobacter* spp. infeksiyonlarının önleminde kanatlı karkaslarındaki mikrobiyel kontaminasyonun azaltması önemlidir. Kanatlı karkaslarındaki *Campylobacter* spp. kontaminasyonunu azaltmak amacıyla genel olarak soğuk-sıcak su ve yüksek basınç uygulamaları gibi fiziksel yöntemler ile organik, inorganik asitler ve bazlar, klorin ve ilgili bileşiklerin kullanımı gibi kimyasal yöntemler tercih edildiği kaydedilmiştir (90).

Campylobacter türlerinin neden olduğu gıda infeksiyonundan korunma ve kontrolün sağlanması için çiftlikten başlayarak mezbaha, dağıtım, muhafaza ve mutfak aşamaları da dahil olmak üzere gerekli tedbirler alınmalıdır. Etkenin yem, su, rodent, insekt, personel ve kullanılan çeşitli ekipmanlarla sağlıklı çiftlik ve kanatlı hayvanlara bulaşması önlenmelidir. Bu amaçla, mezbahalarda çapraz kontaminasyonun önlenmesi için başta Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri (HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points) olmak üzere, İyi Üretim Uygulamaları (GMP: Good Manufacturing Practices) gibi sistemler uygulamaya geçirilmelidir (55).

2.13. TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONUNDA KULLANILAN TEKNİKLER

2.13.1. Klasik Kültür Teknikleri

Termofilik *Campylobacter* türlerinin mikroaerofilik özellikte olmaları ve mikrofloradaki rekabetçi mikroorganizmaların etkilerinden dolayı, gıdalardan izolasyonunda ve identifikasyonunda kullanılacak besiyerlerinin yüksek selektif özellikte olması gerektiği bildirilmiştir (91). Termofilik *Campylobacter*'lerin izolasyonunda selektif katı besiyeri olarak Skirrow agar, Butzler agar, Blazer-Wang agar, Charcoal Cephoperazone Desoxycholate agar (CCDA), Karmali agar ve Abeyta-Hunt-Bark besiyeri kullanılmakta, oksijenin toksik etkisinden korumak için de besiyerlerine, defibrine kan, kömür, ferro sülfat, sodyum metabisülfid, sodyum piruvat ve hemin gibi maddeler katılmaktadır. Çevresel etkenlere karşı duyarlılıklar göz önüne alınarak yapılan zenginleştirme işleminde Preston Broth, Bolton Broth, *Campylobacter* Enrichment

Broth, Exeter Broth, Park ve Sanders Broth kullanılmaktadır. Bolton besiyerinin hem yarışmacı mikroorganizmaların inhibe edilmesi hem de saf *Campylobacter* türlerinin üremesini en iyi destekleyen zenginleştirme besiyeri olduğu bildirilmiştir (26).

Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda, besi yerlerinin koliform, pseudomonas, streptokok türleri, maya ve küflerle kontamine olmasını engellemek için antibiyotik ilave edilmektedir. Selektif besiyerlerine katılan değişik antibiyotik supplementler ve etkileri Tablo 2.3’de gösterilmiştir (54).

Tablo 2.3. Termofilik *Campylobacter* izolasyonunda kullanılan antibiyotikler ve etkileri (54)

Antibiyotik	Etkilediği Mikroorganizma
Vankomisin	Gram pozitif koklar
Polimiksin B	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> spp.
Trimetoprim Laktat	<i>Proteus</i> spp.
Sefalosporinler	<i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacterioides fragilis</i>
Amfoterisin B	Maya ve Küf
Sikloheksimid	Maya ve Küf

2.13.2. İmmunolojik Teknikler

Kültür teknikleri ile elde edilen *Campylobacter* türlerinin doğrulanması amacıyla immunolojik tespit metodları kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin prensibi; kültür ortamından alınan bakteri solüsyonundan antijenlerin açığa çıkarılarak, spesifik polivalan anti-serumlarla lateks ortamında stabilize edilen *Campylobacter* türlerinin, antikorlarla reaksiyon vermesi esasına dayanmaktadır (92).

2.13.3. Hızlı Teknikler

Klasik kültür tekniklerinin hem pahalı olması, hem de çok zaman almalarından dolayı, identifikasyonda daha hassas ve hızlı identifikasyon tekniklerinin geliştirildiği bildirilmiştir. Hızlı teknikler sayesinde, hem zaman tasarrufu sağlanabilmekte hem de, identifikasyonlar daha duyarlı biçimde yapılabilmektedir (93). *Campylobacter* türlerinin saptanması ve genomik karakterizasyonu amacıyla identifikasyonda Polymerase Chain Reaction (PCR), Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), flagellin tiplendirme,

multiplex PCR-RFLP, Ribotyping, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Nucleotide Sequencing, ve Immunomagnetic Capture-Fluorescent PCR (IMC-FPCR) gibi genetik tiplendirme metodları uygulanmaktadır (94).

2.13.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, in vivo şartlarda gerçekleşen DNA replikasyon işleminin, in vitro taşınması olayıdır. Bu teknik sayesinde, tüm DNA zincirinin kopyalanması yerine, ilgili gen bölgesinin kopyalanmasıyla spesifik veriler elde edilebilmektedir (95).

PCR tekniğine göre, oligonükleotid primerlerin ilgili DNA bölgesini üretebilmeleri için bu bölgenin gen sekansının bilinmesi 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 polymerase enziminin ortama katılması ve ortamın soğutulması,
3. DNA polymerase enziminin primerleri kullanarak ilgili bölgenin sentezinin sağlanması,
4. İnkübasyon süresinin sonunda, ilk işlemin yenilenmesi ve üretilecek DNA parçasının belirli bir sayıya ulaşması.

Sentez aşamasında ortamda bulunan ve sentezlenen tüm hedef gen parçaları, primerlerle yeni bir gen parçası oluşturma özelliğine sahiptir. Bu nedenle kısa zamanda yüksek yoğunluğa sahip DNA konsantrasyonu elde edilebilmektedir (93).

Örnek Tipi	Firmalar							Miktar (Adet)
	A	B	C	D	E	F	G	
Tavuk But Eti	6	6	6	4	1	1	1	25
Tavuk Göğüs Eti	6	6	6	4	1	1	1	25
Tavuk Kanat Eti	6	6	6	4	1	1	1	25
Tavuk Karkas	6	6	6	4	1	1	1	25
Toplam								100

3.2. *CAMPYLOBACTER* SPP. İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONUNDA KULLANILAN BESİYERLERİ, SUPPLEMENT VE DİĞER KİMYASALLAR

Tavuk eti örneklerinden termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve supplementleri Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve supplementler

BESİYERİ	İÇERİĞİ	SUPPLEMENT
mCCDA Besiyeri	Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid CM739)	Charcoal Desoxycholate (CCD) Agar Selective Supplement (Oxoid SR155E) Cephoperazone 8 mg/l Amphotericin 10 mg/l
CAT Besiyeri	Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid CM739)	CAT Supplement (Oxoid SR 0174E) Cephoperazone 8 mg/l Amphotericin 10 mg/l Teicoplanin 4 mg/l
Kanlı CCDA Besiyeri	Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid CM739)	% 5 Steril Defibrine Koyun Kanı

3.2.1. Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (mCCDA) Besiyeri

Kültür tekniğinde selektif katı besiyeri olarak kullanılmak üzere, *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid CM 739) hazır besiyerinden 22,75 g tartılarak 500 ml distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri 7,4±0,2’ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda iyice eritildi. 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilizasyonu sağlandı.

Tablo 3.3. *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base besiyeri içeriği

<u>İçerik</u>	<u>Miktar (g/l)</u>
Nutrient Broth No:2	25,0
Bakteriyolojik kömür	4,0
Kasein hidrolizat	3,0
Sodyum desoksikolat	1,0
Ferros Sülfat	0,25
Sodyum piruvat	0,25
Agar	12,0
Distile Su	1000 ml

Besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50°C'ye kadar soğutuldu ve sonra üzerine 2 ml steril distile su ile süspanse edilmiş Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (CCDA) Selective Supplementten eklendi.

Tablo 3.4. mCCDA selektif supplement içeriği (Oxoid, SR155E)

<u>İçerik</u>	<u>Miktar (mg/vial)</u>
Cephoperazone	16mg/vial
Amphotericin B	5mg/vial

Besiyeri herbiri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donmaya bırakıldı. Daha sonra da 4°C'de muhafaza edildi.

3.2.2. CAT Supplement İçeren mCCDA Besiyeri

Modifiye *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar (mCCDA) besiyeri tarif edildiği şekilde hazırlandı ve otoklavda 120°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Oda ısısında soğumaya bırakılan besiyerinin ısısı 40-42°C'ye gelince içerisine, her biri ayrı olarak tartılıp 2 ml steril distile suda eritilmiş olan 8 mg Cephoperazone, 10 mg Amfoterisin B ve 4 mg Teicoplanin besiyerine eklendi. Steril petri kutularına 20 ml miktarında dökülen besiyerleri donmaya bırakıldı. Daha sonra kullanılıncaya kadar 4°C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Kanlı mCCDA Besiyeri

Modifiye *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar (mCCDA) tarif edildiği şekilde hazırlandı ve otoklavda 120°C'de 15 dakika bekletilerek steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50°C'ye soğutulduktan sonra üzerine 50 ml steril defibrine koyun kanı

eklenerek % 5'lik olarak hazırlandı. Besiyeri steril petrilere dökülerek 4 °C'de muhafaza edildi. Steril petri kutularına 20 ml miktarında dökülen besiyerleri, donmaya bırakıldı. Kullanılncaya kadar 4 °C'de muhafaza edildi.

3.2.4. Kanlı Agar Besiyeri

Blood Agar Base No:2 (Oxoid CM 271 B) hazır besiyerinden 40 g tartılarak 1 lt distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri $7,4\pm0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilizasyonu sağlandı. Besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50 °C'ye kadar soğutuldu ve sonra üzerine % 7 steril koyun kanı eklendi. Besiyeri her biri 20 ml olacak şekilde steril petrilere döküldü ve donmaya bırakıldı. Kullanılncaya kadar 4 °C'de muhafaza edildi.

Tablo 3.5. Blood Agar Base No:2 besiyeri içeriği

<u>İçerik</u>	<u>Miktar (g/l)</u>
Proteose peptone	15,0
Liver digest	2,5
Yeast extract	5,0
Sodium chloride	5,0
Agar	12,0
Distile Su	1000 ml

3.2.5. Brucella Broth Besiyeri

Elde edilen izolatların PCR ile identifikasyonu yapılana kadar uygun şartlarda saklanması için Brucella Broth hazırlandı. Brucella Broth Base (Sigma B 3051) hazır besiyerinden 14,05 g alınarak 500 ml distile su içinde çözündürüldü ve pH seviyesi $7,4\pm0,2$ 'ye ayarlanarak önceden hazırlanan tüplere 1 ml olacak şekilde dağıtıldı. 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi ve besiyerleri soğumasını takiben buzdolabına kaldırılarak kullanılncaya kadar saklandı.

Tablo 3.6. Brucella Broth Besiyeri İçeriği

<u>İçerik</u>	<u>Miktar (g/l)</u>
Casein Enzymic Hydrolysate	10,0
Peptik Digest of Animal Tissue	10,0
Dekstroz	1,0
Maya özütü	2,0
Sodyum klorid	5,0
Sodyum bisülfid	0,1
Distile Su	1000 ml

3.2.6. Triple Sugar Iron (TSI) Agar Besiyeri

H₂S oluşum testinde kullanmak üzere hazırlandı. Triple Sugar Iron (TSI) Agar hazır besiyerinden (Oxoid CM 277) 65 g alınarak 1 lt distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri 7,4±0,2'ye ayarlandı. Su banyosunda kaynatılarak eritildikten sonra sıvı halde iken tüplere 10 ml olacak şekilde dağıtıldı. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra yatık agar şeklinde hazırlandı ve 4 °C'de muhafaza edildi.

Tablo 3.7. Triple Sugar Iron Agar Besiyeri İçeriği

İçerik	Miktar (g/l)
Peptone from casein	15,0
Peptone from meat	5,0
Et ekstraktı	3,0
Maya özütü	3,0
Sodyum klorid	5,0
Laktoz	10,0
Sukroz	10,0
D (+) glukoz	1,0
Amonyum demir (III) sitrat	0,5
Sodyum tiyosülfat	0,5
Fenol kırmızısı	0,024
Agar-agar	12,0
Distile Su	1000 ml

3.2.7. Katalaz Test Ayıracı

% 30'luk 2 ml hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck 107209), 27 ml distile suda karıştırılarak testte kullanılmak üzere % 3'lük H₂O₂ solüsyonu hazırlandı.

3.2.8. Oksidaz Test Kiti

Hazır Oxydase test kitleri (Oxoid BR 64) kullanıldı.

3.2.9. Hippurat Test Ayıracı

PBS (Phosphate Buffered Saline) içinde hazırlanan %1'lik sodyum hippurat solüsyonu filtrasyon yöntemi ile sterilize edildi. Steril tüplere paylaştırılarak -20 °C'de muhafaza edildi. 3,5 g ninhidrin, 50 ml aseton ve 50 ml bütanol kullanılarak hazırlanan % 3,5 ninhidrin solüsyonu ise taze olarak kullanıldı.

Tablo 3.8. Sodyum Hippurat solüsyonu içeriği

<u>İçerik</u>	<u>Miktar(g/l)</u>
Sodyum hippurat	10 g
<u>PBS (Phosphate Buffered Saline)</u>	
Sodyum klorit	8,5 g
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat	8,98 g
Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat	2,71 g
Distile su	1000 ml

3.2.10 Membran Filtreler

Gözenek çapı 0,45 µm 47 mm'lik selüloz asetat filtreler (Sartorius AG 37070) kullanıldı.

3.2.11. Mikroaerobik Ortam Kitleri

Anaerobik jarlar (Merck, M116387.0001) ve içinde mikroaerobik ortam sağlayan ticari gaz kitleri (Anaerocult C, Merck M116275.0001) kullanıldı.

3.3. MULTİPLEKS PCR İŞLEMİNDE KULLANILAN MALZEMELER

PCR işleminde kullanılan malzemeler aşağıda listelenmiştir.

Tablo 3.9. PCR İşleminde Kullanılan Malzeme Listesi

<u>Malzeme</u>	<u>Miktar</u>
Taq DNA polymerase (Dr.Zeydanlı, DZTQ-5)	500 U
PCR Buffer (Dr.Zeydanlı, DZPBS10-05)	10X
MgCl ₂ (Merck, 105833)	25 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Dr.Zeydanlı, DZ010-S)	10 mM

3.3.1. Primer Çiftleri

Campylobacter jejuni için; 323 baz çifti (bp) büyüklüğünde DNA bandı veren, *C. jejuni* *hipO* gen primeri kullanıldı. (Alpha DNA, Montreal, Kanada)

Primer-I (CJF) : 5' - ACT TCT TTA TTG CTT GCT GC - 3'

Primer-II (CJR) : 5' - GCC ACA ACA AGT AAA GAA GC - 3'

Campylobacter coli için; 126 baz çifti büyüklüğünde DNA bandı veren, *C. coli* *glyA* gen primeri kullanıldı. (Alpha DNA, Montreal, Kanada)

Primer-I (CCF) : 5' - GTAAAACCAAAGCTTATCGTG -3'

Primer-II (CCR) : 5'- TCCAGCAATGTGTGCAATG -3'

Campylobacter lari için; 251 baz çifti büyüklüğünde DNA bandı veren, *C. lari glyA* gen primeri kullanıldı. (Alpha DNA, Montreal, Kanada)

Primer-I (CLF) : 5'- TAGAGAGATAGCAAAAGAGA -'3

Primer-II (CLR) : 5'- TACACATAATAATCCCCACCC -'3 (96).

3.3.2. TBE solüsyonu

Tris-Borik Asit-EDTA hazır stok solüsyonu (Dr.Zeydanlı, DZTBE10-1) olarak temin edilen 10X (TBE) 1 lt'lik tampon çözelti olarak kullanılmıştır.

3.3.3 Ethidium Bromide

Ethidium Bromid stok solüsyon (Dr.Zeydanlı, DZEB-10) 10 µg/ml olarak temin edilmiş ve 1:9 oranında sulandırılarak 1 µg/ml konsantrasyonda kullanılmıştır.

3.3.4. Agaroz jel

% 1,5'luk agaroz jel için, 4,5 g agaroz (HyAgarose LE, Vivantis) ve 300 ml 1X TBE eklenerek mikrodalga fırında 90 saniyede eritilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye soğutulduktan sonra içerisine 300 µl Ethidium Bromide eklenmiş ve katılaşmaya bırakılmıştır.

3.3.5 Standart Suşlar

Bu çalışmada, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon, identifikasyon ve PCR işlemleri aşamasında *C. jejuni* NCTC 11168, *C. coli* DCC2 ve *C. lari* DCC4 referans suşları kullanılmıştır.

3.4. YÖNTEM

Kayseri ilindeki çeşitli süpermarketlerde paketlenmiş olarak satışa sunulan tavuk but, göğüs, kanat ve karkas örnekleri aseptik şartlarda alınarak soğuk zincir altında aynı gün içinde laboratuvara getirildi ve aynı gün analize başlandı. Tavuk örneklerindeki termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu TS EN ISO 10272-1 yöntemine göre yapılmıştır (97). Tüm aşamalara ait izolasyon ve identifikasyon şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

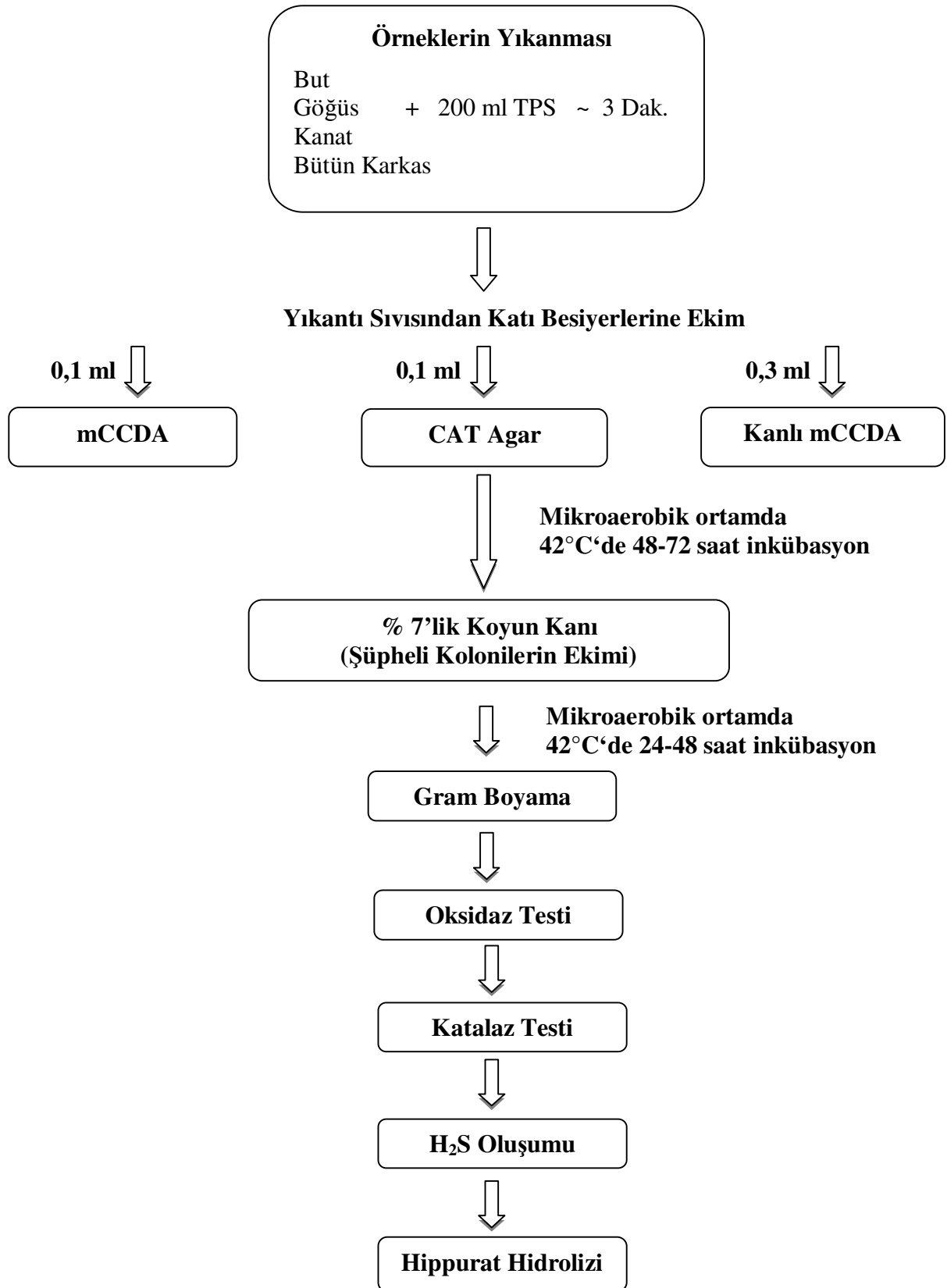
3.4.1. *Campylobacter* spp.’nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Campylobacter türlerinin izolasyonunda örneklerin yıkanması, yıkantı sıvısının katı besiyerine ekimi ve inkübasyon sonunda seçilen şüpheli kolonilerin identifikasyonu aşamaları uygulandı. İdentifikasyon amacıyla morfolojik testler (Gram boyama ve mikroskopik morfoloji, hareketlilik) ve biyokimyasal testler (oksidaz, katalaz, sodyum hippurat hidrolizi, H₂S oluşumu) uygulandı.

Tavuk but, kanat, göğüs ve karkas örnekleri, steril stomacher poşetlerine konularak 200 ml TPS (Tamponlanmış peptonlu su) ile 3 dakika süreyle elle ovulup yıkandıktan sonra elde edilen yıkantı sıvısı örnek olarak kullanıldı.

Elde edilen yıkantı sıvısından 0,1 ml alındı. İlk yöntemde daha önce ekim için hazırlanmış olan mCCDA besiyerine (Oxoid CM 739, Oxoid SR 155E), ikinci yöntemde CAT supplement içeren mCCDA (Oxoid CM 739, Oxoid SR0174) besiyerine direkt ekim yapıldı. Üçüncü yöntemde ise 0,3 ml yıkantı sıvısı 0,45 µm gözenek çapına sahip 47 mm’lik selüloz asetat filtreler kullanılarak membran filtrasyon yöntemiyle % 5 steril koyun kanı içeren mCCDA besiyerine filtre edildi.

Besiyerleri mikroaerobik koşullarda 42 °C’de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası her üç besiyerinde üreyen 1-2 mm çapında konveks, parlak, düzgün kenarlı ve grimsi renkte termofilik *Campylobacter* spp. şüpheli tipik özellik gösteren farklı koloniler seçilerek % 7’lik steril defibrine koyun kanı içeren kanlı agara (Blood Agar Base No:2 CM 271 B) ekimi yapıldı ve petriler 42°C’de 24-48 saat mikroaerobik ortamda inkübe edildi.



Şekil 3.1. Termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyon şeması

3.4.2. İdentifikasyon

3.4.2.1. Gram Boyama ve Mikroskopik Muayene

Kanlı agarda üreyen kolonilerinden bir öze dolusu alınarak, Gram boyama işlemi gerçekleştirildi. Mikroskopta (YS2-H Nikon, Japonya) incelenen Gram negatif, kıvrık spiral veya martı kanadı görünümündeki mikroorganizmalar *Campylobacter* spp. olarak değerlendirildi (97).

3.4.2.2. Hareketlilik Testi

Kanlı agarda üreyen koloniler bir öze ile alınarak lam üzerine konuldu ve faz kontrast mikroskopunda hareketlilik ve morfolojik açıdan incelendi. Helezon şekilli, kıvrık ve yön değiştiren hücrelerin gözlenmesi ile hareket yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir (97).

3.4.2.3. Katalaz Testi

Test için % 3'lük H₂O₂ solüsyonundan bir öze dolusu bir lam üzerine alındı ve üzerine öze ile kanlı agarda üreyen şüpheli kolonilerden konuldu. Bir kaç saniye içerisinde oluşan gaz kabarcıkları pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (97).

3.4.2.4. Oksidaz Testi

Kanlı agarda üreyen şüpheli koloniler öze yardımı ile alınıp hazır oksidaz test kitlerine (Oxoid BR 64 A) sürüldü, 10-20 sn sonunda oluşan menekşe rengi pozitif olarak kabul edildi (97).

3.4.2.5. Hippurat Hidroliz Testi

Kanlı agarda üreyen şüpheli *Campylobacter* spp. kolonilerinden, içerisinde 0,4 ml sodyum hippurat çözeltisi bulunan tüp içerisine bir öze dolusu alındı ve 37°C'de 2 saat süreyle su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, % 3,5'lik ninhidrin ayırıcından he bir tüpe 0,2 ml ilave edilerek 10-15 dakika daha inkübasyona devam edildi. İnkübasyon sonrası koyu mavi renk oluşumu hippurat pozitif, açık mavi veya renk oluşmaması hippurat negatif olarak değerlendirildi (97).

3.4.2.6. H₂S Oluşumu

Campylobacter spp. besiyerlerinde bulunan glikoz, sükroz ve laktozu kullanamaz ve H₂S oluşturmadıkları için renk değişimi görülmez. Test için kanlı agardan alınan

izolatlar, yatık TSI agara inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerinde renk değişiminin olmaması *Campylobacter* spp. pozitif olarak değerlendirildi (97).

3.4.2.7. 30°C'de Üreme Özelliği

Kanlı agar besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden bir öze dolusu alınarak kanlı agara inoküle edildi. 30°C'de 2-5 gün süreyle mikroaerobik ortamda inkübasyona bırakılarak üreme yönünden test edildi.

3.5. *CAMPYLOBACTER* İZOLATLARININ MUHAFAZASI

Kanatlı etlerinden ayrılan izolatlar moleküler identifikasyonları yapılana kadar % 10 gliserol içeren, Brucella broth besiyerinden hazırlanan cryotüpler içerisinde – 85°C'de (Sanyo MDF-U5186S) dondurularak saklandılar (98).

3.6. *CAMPYLOBACTER* İZOLATLARININ mPCR İLE İDENTİFİKASYONU

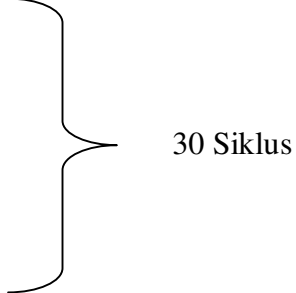
3.6.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu amacıyla araştırmacılar tarafından daha önce birçok kez kullanılan direkt kaynatma metodu kullanılmıştır. Bu amaçla izolatlar, 200'er µl steril distile su içinde homojenize edildikten sonra 15 dakika su içinde kaynatma işlemine tabi tutuldu. Kaynatılan örnekler 15000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5430 R) edilerek DNA ekstraksiyonu sağlandı. Üstteki süpernatant template DNA kullanılmak üzere başka ependorf tüpe alındı. DNA'lar PCR işlemi yapılana kadar -20°C'de muhafaza edildi (99).

3.6.2. Multipleks PCR Uygulaması

Wang ve ark (96) uyguladığı protokolde bazı düzenlemeler yapılarak mPCR işlemi yapılmıştır. *C. fetus* ve *C. upsaliensis* primerleri çıkarılarak modifiye edilen uygulamada her bir PCR tüpüne, 200 µM deoxynucleoside triphosphate (dNTP); 2,5 µl 10X PCR buffer (500 mM Tris-HCl (pH 8,3), 100 mM KCl ve 50 mM (NH₄)₂SO₄); 20 mM MgCl₂; 0,5 µM *C. jejuni* ve *C. lari* primeri; 1 µM *C. coli* primeri, 0,2 µM 23S rRNA primeri, 1,25 U Taq DNA polymerase ve 2,5 µl hedef DNA içeren karışım hazırlandı. PCR işlemi toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi. 22,5 µl PCR karışımına 2,5 µl hedef DNA ilave edilerek toplam 25 µl hacim elde edildi. Termal Cycler'da (Biometra T,

Personal Thermal Cycler) gerçekleştirilen amplifikasyon döngü sırası aşağıdaki gibi uygulandıktan sonra elde edilen ampliconlar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

- 95°C’de 6 dak ilk denatürasyon
 - 95°C’de 30 sn denatürasyon
 - 59°C’de 30 sn bağlanma (annealing)
 - 72°C’de 30 sn uzama (extension)
 - 72°C’de 7 dak son uzama (final extension)
- 

3.6.3. Elektroforez

Bir sonraki aşamada ampliconlardan 5 µl alınarak, 1 µl 6X jel yükleme solüsyonu (Dr.Zeydanlı, DZLB6X-5 Orange G) ile boyanmıştır. Amplifikasyon sonucu elde edilen PCR ürünleri, ethidium bromide içeren % 1,5’luk agaroz jelde, 100 Voltta 1 saat elektroforez (Thermo EC 330) işlemine tabi tutulduktan sonra jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülenmiştir. Elektroforez sırasında hedef gene özgü oluşan DNA bantlarının molekül ağırlıklarını belirlemek için 100 bp DNA ladder (Dr.Zeydanlı) kullanılmıştır (100).

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizler, örneklerden izole edilen termofilik *Campylobacter* verileri dikkate alınarak kültür teknikleri arasındaki farklılıklar yönünden yapılmıştır. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 13.0) programı kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılması “T” testi istatistiki yöntemine göre yapıldı.

4. BULGULAR

Bu alışmada, 2011 Nisan-Temmuz aylarında Kayseri'deki süpermarketlerde paketlenmiş olarak satışa sunulan, 7 farklı firmaya ait toplam 100 adet tavuk eti rneği, üç farklı kültür tekniği ile termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı yönünden incelenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle ile izole ve identifiye edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin mPCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır.

Her üç yöntem ile yapılan incelemelerde 100 örneğin 94'nden termofilik *Campylobacter* spp. izolasyonu sağlanırken, sadece 6 adet örnekte her üç yöntem negatif sonuç vermiştir. Negatif sonuç veren 6 örneğin tamamının tavuk göğüs eti olduğu tespit edilmiştir.

İncelenen 100 adet tavuk eti örneğinin mCCDA besiyeri kullanılarak 87'sinden (% 87), CAT supplement içeren mCCDA besiyeri kullanarak 87'sinden (% 87) ve kanlı mCCDA besiyeri kullanarak filtrasyon yöntemiyle 52'sinden (% 52) termofilik *Campylobacter* türleri izole edilmiştir. Her üç kültür tekniği uygulandığında ortaya çıkan *Campylobacter* spp. prevalansı Tablo 4.1'dedir.

Tablo 4.1. Kültür tekniklerinden elde edilen *Campylobacter* spp. prevalansı

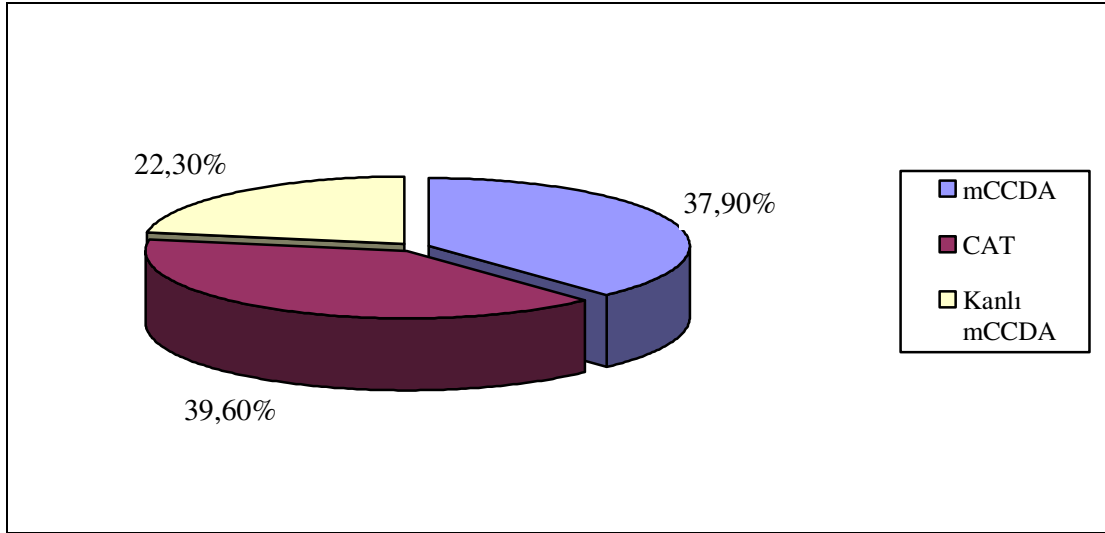
Örnek Sayısı	Kültür Yöntemi	<i>Campylobacter</i> spp. Prevalansı
100 Adet Tavuk Eti	mCCDA Besiyeri	% 87
	CAT Besiyeri	% 87
	Kanlı mCCDA Besiyeri	% 52

Tüm örneklerden toplam 295 termofilik *Campylobacter* izolatu elde edilmiştir. Bunların % 37,9'u (112/295) mCCDA besiyerinden, % 39,6'sı (117/295) CAT besiyerinden, % 22,3'ü de (66/295) kanlı mCCDA besiyerinden izole edilmiştir (Tablo 4.2, Şekil 4.1).

Tablo 4.2. Çalışmada kullanılan izolasyon yöntemleri ve izolatların tür düzeyinde dağılımları

Örnek Tipi	N	Kullanılan Kültür Tekniği								
		I			II			III		
		TC (%)	Cj	Cc	TC (%)	Cj	Cc	TC (%)	Cj	Cc
Tavuk But Eti	25	112 (37,9)	21	8	117 (39,6)	17	9	66 (22,3)	11	3
Tavuk Göğüs Eti	25		14	14		15	9		5	4
Tavuk Kanat Eti	25		20	9		30	8		15	1
Tavuk Karkas	25		23	3		23	6		24	3
Toplam	100		78	34		85	32		55	11

N: Örnek Sayısı I: mCCDA besiyerine direkt ekim II: CAT besiyerine direkt ekim III: Kanlı mCCDA besiyerine filtrasyon TC: Termofilik *Campylobacter* pozitif örnek sayısı Cj: *C. jejuni* pozitif örnek sayısı Cc: *C. coli* pozitif örnek sayısı



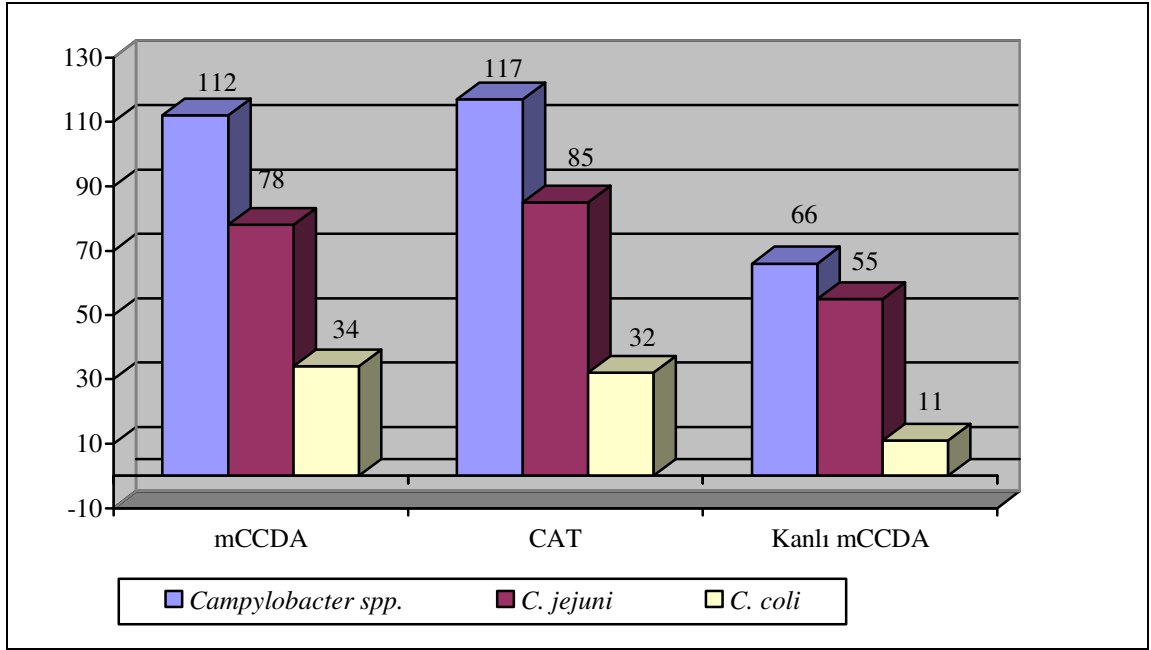
Şekil 4.1. Termofilik *Campylobacter* izolatlarının kültür tekniklerine göre dağılımı.

Analiz sonucunda elde edilen termofilik *Campylobacter* izolatlarının kültür tekniklerine göre dağılımı değerlendirildiğinde, mCCDA besiyerinden izole edilen 112 izolatın 78'i (% 69,7) *C. jejuni*, 34'ü (% 30,3) *C. coli*, CAT besiyerinden elde edilen 117 izolatın 85'i *C. jejuni* (% 72,6), 32'si *C. coli* (% 27,4) olarak identifiye edilirken, kanlı mCCDA besiyerinden filtrasyon ile elde edilen 66 izolatın 55'i *C. jejuni* (% 83,3), 11'inin de *C. coli* (% 16,7) olduğu saptanmıştır. Elde edilen izolatların izolasyon yöntemlerine göre sayısal dağılımı Tablo 4.3.'dedir.

Tablo 4.3. Termofilik *Campylobacter* izolatlarının izolasyon yöntemlerine göre dağılımı.

Kültür Tekniği	Elde Edilen İzolat Sayısı				
	Termofilik <i>Campylobacter</i> spp.	<i>C. jejuni</i>	%	<i>C. coli</i>	%
mCCDA Besiyeri	112 ^a /295 ^b	78	69,7	34	30,3
CAT Besiyeri	117/295	85	72,6	32	27,4
Kanlı mCCDA Besiyeri	66/295	55	83,3	11	16,7

a: Kültür tekniği ile elde edilen izolat sayısı b: Her üç kültür tekniğinden elde edilen toplam izolat sayısı



Şekil 4.2. Kültür yöntemlerinden elde edilen termofilik *Campylobacter*'lerin sayısal dağılımları

Kültür teknikleri kullanılarak elde edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin örnek tipine göre dağılımları değerlendirilmiştir. Buna göre mCCDA besiyerine ekimi yapılan 25 but etinin 24'ünden, 25 göğüs etinin 17'sinden, 25 kanat etinin 23'ünden ve 25 tavuk karkasının 23'ünden termofilik *Campylobacter* spp. izolasyonu sağlanmıştır. CAT besiyerinde 25 but etinin 22'sinden 25 göğüs etinin 16'sından, 25 kanat etinin tamamından ve 25 tavuk karkasının 24'ünden termofilik *Campylobacter* spp. izole edilmiştir. Kanlı mCCDA besiyerinde, 25 but etinin 13'ünden 25 göğüs etinin 9'undan, 25 kanat etinin 13'ünden ve 25 tavuk karkasının 17'sinden termofilik *Campylobacter* spp. izole edilmiştir.

25 adet but eti örneğinden her üç besiyerine ekiminden elde edilen 69 izolattın 49'u *C. jejuni*, 20'si *C. coli* olarak identifiye edilmiştir. *C. jejuni* izolatlarının % 42,9'u (21/49) mCCDA'dan, % 34,7'si (17/49) CAT besiyerinden, % 22,4'ü (11/49) kanlı mCCDA'dan, *C. coli* izolatlarının % 40,0'ı (8/20) mCCDA'dan, % 45'i (9/20) CAT besiyerinden, % 15'i (3/20) de kanlı mCCDA'dan elde edilmiştir (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

Tablo 4.4. Tavuk but etindeki termofilik *Campylobacter* izolatlarının kültür tekniklerine göre sayısal dağılımı.

İzolasyon Yöntemi	mCCDA		CAT		Kanlı mCCDA		Toplam İzolat Sayısı	
İzolant	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Tavuk But Eti (%)	21 (42,9)	8 (40,0)	17 (34,7)	9 (45,0)	11 (22,4)	3 (15,0)	49	20

25 adet kanat eti örneğinden elde edilen 83 izolatın 65'i *C. jejuni*, 18'i *C.coli* olarak identifiye edilmiştir. *C. jejuni* izolatlarının % 30,8'i (20/65) mCCDA'dan, % 46,1'i (30/65) CAT besiyerinden, % 23,1 (15/65) kanlı mCCDA'dan, *C. coli* izolatlarının % 50,0'si (9/18) mCCDA'dan, % 44,4'ü (8/18) CAT besiyerinden, % 5,6'sı da (1/18) de kanlı mCCDA'dan elde edilmiştir (Tablo 4.5; Şekil 4.4).

Tablo 4.5. Tavuk kanat etinde termofilik *Campylobacter* izolat sayıları ve izolasyon yöntemlerine göre dağılımı.

İzolasyon Yöntemi	mCCDA		CAT		Kanlı mCCDA		Toplam İzolat Sayısı	
İzolant	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Tavuk Kanat Eti (%)	20 (30,8)	9 (50,0)	30 (46,1)	8 (44,4)	15 (23,1)	1 (5,6)	65	18

25 adet göğüs eti örneğinden elde edilen 61 izolatın 34'ü *C. jejuni*, 27'si *C.coli* olarak identifiye edilmiştir. *C. jejuni* izolatlarının % 41,2'si (14/34) mCCDA'dan, % 44,1'i (15/34) CAT besiyerinden, % 14,7'si (5/34) kanlı mCCDA'dan, *C. coli* izolatlarının % 51,9'u (14/27) mCCDA'dan, % 33,3'ü (9/27) CAT besiyerinden, % 14,8'i de (4/27) de kanlı mCCDA'dan elde edilmiştir (Tablo 4.6; Şekil 4.5).

Tablo 4.6. Tavuk göğüs etinde termofilik *Campylobacter* izolat sayıları ve izolasyon yöntemlerine göre dağılımı.

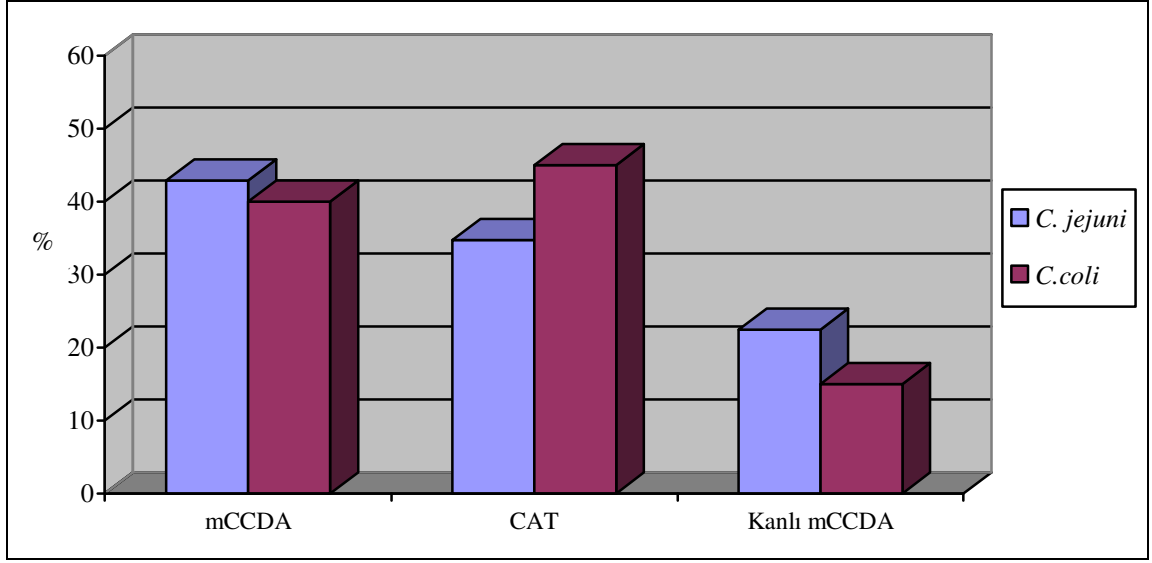
İzolasyon Yöntemi	mCCDA		CAT		Kanlı mCCDA		Toplam İzolat Sayısı	
İzolat	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Tavuk Göğüs Eti (%)	14 (41,2)	14 (51,9)	15 (44,1)	9 (33,3)	5 (14,7)	4 (14,8)	34	27

25 adet tavuk karkas örneğinden elde edilen 82 izolatın 70'i *C. jejuni*, 12'si *C. coli* olarak tanımlanmıştır. *C. jejuni* izolatlarının % 32,9'u (23/70) mCCDA'dan, % 32,9'u (23/70) CAT besiyerinden, % 34,2'si (24/70) kanlı mCCDA'dan, *C. coli* izolatlarının % 25,0'i (3/12) mCCDA'dan, % 50,0'i (6/12) CAT besiyerinden, % 25,0'i de (3/12) de kanlı mCCDA'dan elde edilmiştir (Tablo 4.7; Şekil 4.6).

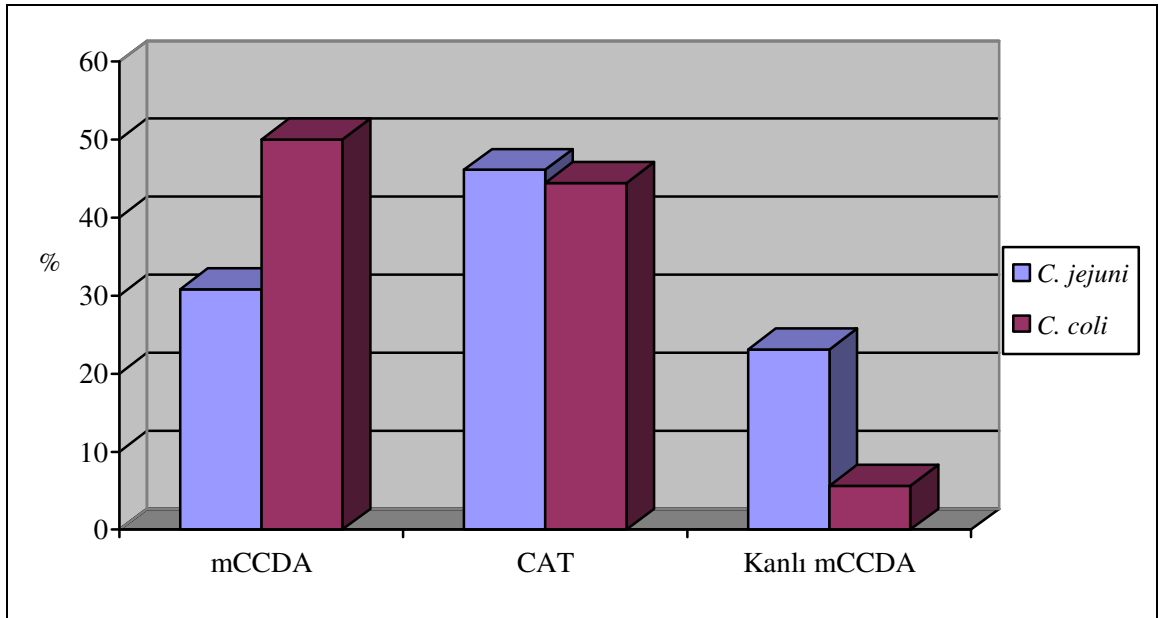
Tablo 4.7. Tavuk karkasında termofilik *Campylobacter* izolat sayıları ve izolasyon yöntemlerine göre dağılımı.

İzolasyon Yöntemi	mCCDA		CAT		Kanlı mCCDA		Toplam İzolat Sayısı	
İzolat	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Tavuk Karkas (%)	23 (32,9)	3 (25,0)	23 (32,9)	6 (50,0)	24 (34,2)	3 (25,0)	70	12

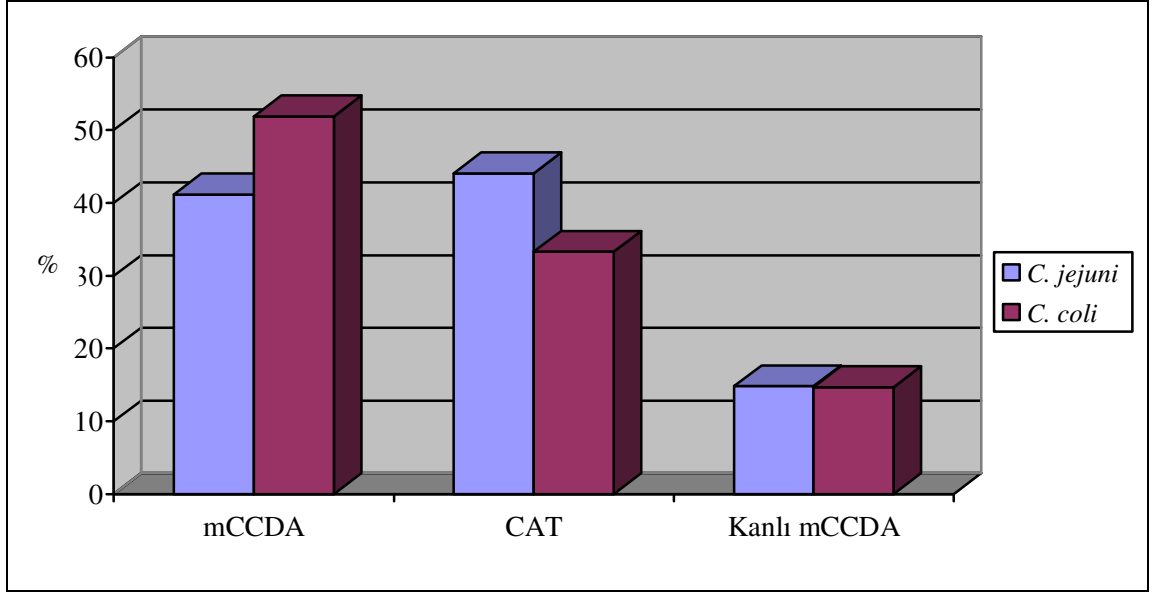
İstatistiksel olarak, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonunda mCCDA ve CAT besiyerleri arasındaki farkın (but eti-kanat eti $p_{\text{CAT-CCDA}}=0.161$, göğüs eti-karkas $p_{\text{CAT-CCDA}}=0.574$) önemli olmadığı tespit edilmiştir. But eti ve göğüs etlerinden termofilik *Campylobacter* türlerinin elde edilmesinde CAT besiyeri ve kanlı mCCDA besiyerleri arasındaki farkın ise önemli olduğu ($p<0,05$) saptanmıştır. Kanat eti ve karkas etlerinden izolat elde edilmesinde CAT besiyeri ve kanlı mCCDA besiyeri arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu tespit edilmiştir.



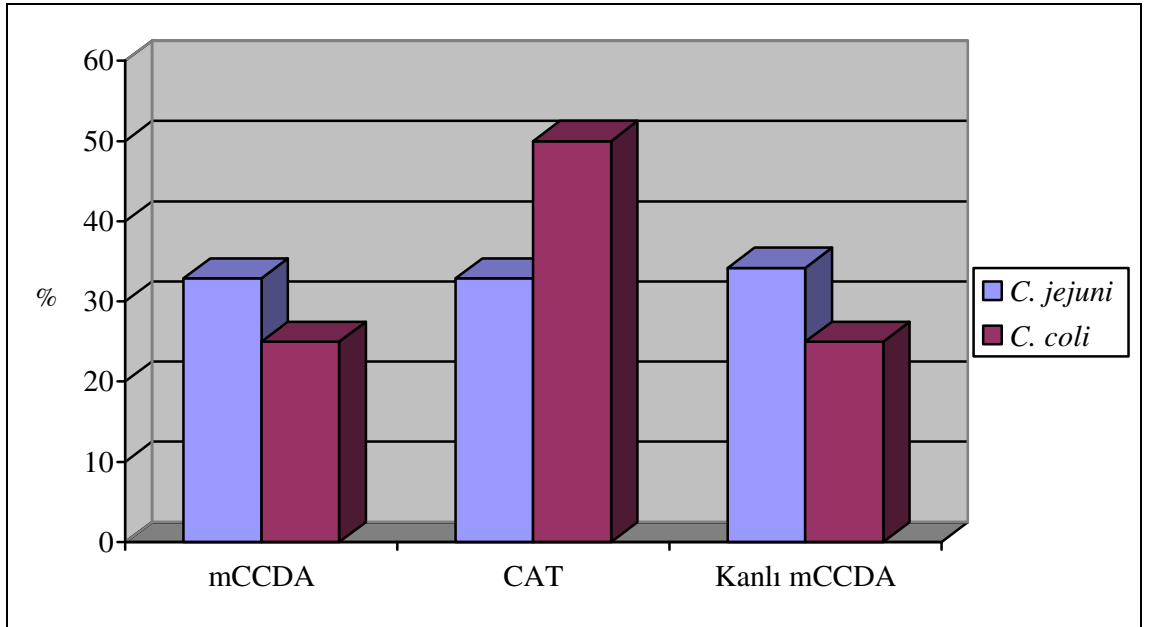
Şekil 4.3. Tavuk but eti örneklerindeki *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının kültür yöntemlerine göre yüzde dağılımı.



Şekil 4.4. Tavuk kanat eti örneklerindeki *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının kültür yöntemlerine göre yüzde dağılımı.



Şekil 4.5. Tavuk göğüs eti örneklerindeki *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının kültür yöntemlerine göre yüzde dağılımı.



Şekil 4.6. Tavuk karkas örneklerindeki *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının kültür yöntemlerine göre yüzde dağılımı.

Kültür yöntemleri ile elde edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin örnek tiplerine göre sayısal dağılımları Tablo 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Kültür yöntemlerinden elde edilen *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının örnek tiplerine göre sayısal dağılımları

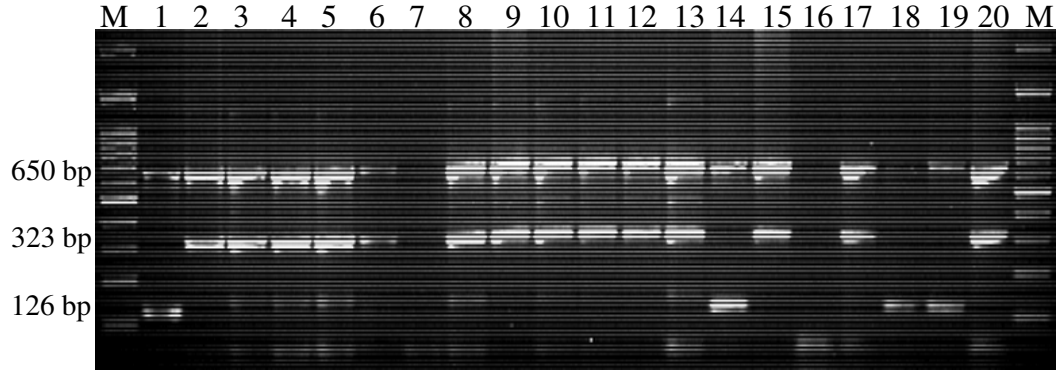
Örnek Tipi												
Örnek No	But Eti						Göğüs Eti					
	I		II		III		I		II		III	
	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc
1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	1	-
4	1	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-
5	1	-	1	1	-	-	-	-	-	1	-	-
6	1	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-
7	1	-	1	1	-	-	-	-	1	-	1	-
8	2	-	1	-	-	-	2	-	1	-	-	-
9	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
10	1	1	1	-	-	-	1	1	2	-	1	-
11	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-
12	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2	-	2	-	2	-	-	2	-	1	-	-
16	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	1	-	1	2	3	-	2	-	3	-	2
18	1	1	1	-	1	-	2	1	-	1	-	1
19	1	-	-	-	-	-	1	2	-	1	-	-
20	1	-	-	-	-	-	-	1	2	-	1	-
21	1	1	1	1	1	-	1	-	2	-	-	-
22	1	1	1	-	1	-	2	1	-	1	-	1
23	1	-	-	-	-	-	1	2	-	1	-	-
24	1	-	-	1	-	-	-	1	2	-	1	-
25	1	1	1	1	1	-	1	1	2	-	-	-
Toplam	21	8	17	9	11	3	14	14	15	9	5	4

I : mCCDA besiyerine direkt ekim II : CAT besiyerine direkt ekim III : Kanlı mCCDA besiyerine filtrasyon Cj: İzole edilen pozitif *C. jejuni* sayısı Cc: İzole edilen pozitif *C. coli* sayısı (-) : İzolasyon yapılamadı

Tablo 4.8. Kültür yöntemlerinden elde edilen *C. jejuni* ve *C. coli* izolatlarının örnek tiplerine göre sayısal dağılımları (**devamı**)

�rnek Tipi												
�rnek No	Kanat Eti						Tavuk Karkas					
	I		II		III		I		II		III	
	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc	Cj	Cc
1	2	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-
3	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-
4	-	-	1	-	-	-	2	-	1	-	1	-
5	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-
6	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-
7	1	-	2	-	-	-	-	1	2	-	1	-
8	2	-	-	1	1	-	2	-	1	-	-	-
9	-	-	2	-	-	-	1	-	1	-	-	-
10	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-
11	1	-	-	-	-	-	2	-	1	-	1	-
12	1	-	1	-	1	-	2	1	2	1	1	1
13	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
14	2	-	5	-	1	-	2	-	1	1	-	1
15	-	2	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-
16	1	-	3	1	1	-	1	-	1	1	-	1
17	-	-	1	1	1	-	2	-	2	-	4	-
18	-	1	3	-	2	-	2	-	1	1	3	-
19	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-
21	2	1	1	1	-	-	1	-	2	-	3	-
22	1	-	1	-	-	-	2	-	1	1	3	-
23	1	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-
24	2	1	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-
25	-	1	3	-	2	-	1	-	2	-	3	-
Toplam	20	9	30	8	15	1	23	3	23	6	24	3

I : mCCDA besiyerine direkt ekim II : CAT besiyerine direkt ekim III : Kanlı mCCDA besiyerine filtrasyon Cj: İzole edilen pozitif *C. jejuni* sayısı Cc: İzole edilen pozitif *C. coli* sayısı (-) : İzolasyon yapılamadı



Şekil 4.7. mPCR ile ampfliye edilen ürünlerin % 1,5 agaroz jeldeki görünüşleri. M:100 bp DNA ladder, 1: *C.coli* izolatu, 2-6, 8-15,17: *C.jejuni* izolatları, 7-16: Negatif Kontrol (Steril distile su), 14: Pozitif kontrol (*C. coli* DCC2), 20: Pozitif kontrol (*C. jejuni* NCTC 11168)

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Bu araştırmada, çeşitli marketlerde paketlenmiş olarak satışa sunulan 25'er adet tavuk but eti, kanat eti, göğüs eti ve tavuk karkası örnekleri ile çalışılmıştır. Tüketime sunulan 100 adet tavuk eti örneğinden yıkama yöntemi ile elde edilen yıkantı sıvısından mCCDA besiyerine ve CAT besiyerine direkt ekim, kanlı mCCDA besiyerine filtrasyon yöntemiyle ekim yapılmış ve kültür yöntemleri arasındaki verimlilik incelenerek *Campylobacter* spp. izolasyonunun en fazla sağlandığı teknik belirlenmeye çalışılmıştır.

Temofilik *Campylobacter* türlerinin kanatlı etlerinden veya kanatlı bağırsak içeriğinden izolasyonunda kullanılan besiyerleri, floradaki rekabetçi mikroorganizmaların üremelerini baskılamak amacı ile çeşitli kompozisyonlarda antibiyotik ve antimikotik gibi antimikrobiyal maddelerin ve kimyasalların (charcoal, demir sülfat, sodyum piruvat vb.) ilavesi ile selektif besiyerine dönüştürölmektedir. Besiyerlerine ilave edilen antibiyotiklerin türü ve konsantrasyonları bu besiyerlerinin duyarlılığını belirleyen en önemli faktörler olarak gösterilmiştir (101, 102).

Çalışmamızda izolasyon sonucu elde edilen termofilik *Campylobacter* türlerinin büyük çoğunluğu direkt ekim yöntemi ile mCCDA besiyeri (%37,9) ve CAT besiyerinden (%39,6) elde edilmiştir. Her iki besiyeri arasında yapılan karşılaştırmada izolatların izolasyon oranının, CAT besiyerinde mCCDA besiyerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum CAT besiyerinin mCCDA besiyerine göre daha seçici ve duyarlı olması ile izah edilebilir. İstatistiksel olarak besiyerleri arasındaki farkın izolasyon oranı açısından önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Örnek tiplerine göre değerlendirildiğinde CAT besiyerindeki *C. jejuni* izolatları en fazla kanat eti ve göğüs

etinden elde edilmiştir. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonunda kültür yöntemleri arasındaki etkinliğin karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Corry ve Atabay (103), mCCDA besiyeri ve CAT besiyerinin verimliliklerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, *Campylobacter* türlerine ait 35 suşun besiyerlerindeki üreme kabiliyetlerini test etmişlerdir. Her iki besiyerinde üretilen 35 suşun 19'unun, CAT besiyerinde mCCDA besiyerine göre daha iyi geliştiği görülmüştür. mCCDA besiyerinde 35 suşun 8'inde gelişme görülmezken, CAT besiyerinde sadece 1 suşun gelişmediği saptanmıştır. Araştırmacılar sonuç olarak *Campylobacter* ve *Arcobacter* türlerin gelişiminde, CAT besiyerinin mCCDA besiyerine göre daha verimli olduğu kanaatine varmışlardır. mCCDA besiyeri ve CAT besiyeri arasındaki temel farklılıklardan biri, CAT besiyerinde dışkılarıdaki enterokok gelişimini baskılamak için katılan teicoplanin bulunmasıdır. Bu durum mCCDA ve CAT besiyerlerine katılan antibiyotik kompozisyonlarındaki farklılık ile ilişkilendirilebilir.

Acke ve ark (104), 5 farklı kültür yöntemini (CAT besiyeri, mCCDA besiyeri, kanlı agar-membran filtrasyon, CAT agar-membran filtrasyon ve CCDA broth besiyeri) karşılaştırdıkları çalışmalarında *Campylobacter* spp. yönünden inceledikleri 361 kedi ve köpek rektal swab örneğinin 163'ünde (% 45,2) *Campylobacter* spp. pozitif tespit etmişlerdir. Diğer dört yöntemle göre CAT besiyerinden elde edilen *Campylobacter* spp.. prevalansının (% 33,0) daha yüksek olduğu kanlı agar-filtrasyon ve CAT besiyeri-filtrasyon yönteminin düşük oranda (% 19,5 ve % 17,5) *Campylobacter* spp. prevalansına sahip olduğu saptanmıştır. Aynı araştırmacılar PCR ile identifikasyonda izolatların % 50,0 *C. upsaliensis*, % 41,9 *C. jejuni* olduğunu tespit etmiş ve *Campylobacter* izolasyonu için tek bir yöntem tercih edildiği takdirde bunun CAT besiyeri olması gerektiği görüşüne varmışlardır

Oyarzabal ve ark (105), kültür tekniklerini karşılaştırdıkları benzer olarak bir çalışmada, taze tavuk karkaslarından yıkama yöntemi ile elde ettikleri yıkama sıvısını mCCDA besiyeri ile birlikte antibiyotik kompozisyonları farklı olan 5 farklı katı besiyerine (Campy-Cefex, mCampy-Cefex, Campy, Campy-line ve Karmali) doğrudan ekim yapmışlar, mCCDA besiyeri yöntemi ile 240 tavuk karkas örneğinin 109'undan (% 45,4) *Campylobacter* spp. izole etmişlerdir. Kültür teknikleri karşılaştırdığında *C. coli* izolasyonu için Campy katı besiyerinin diğer selektif besiyerlerinden daha verimli olduğunu bunun sebebinin de katı besiyerinin içeriğinde bulunan antibiyotik

kompozisyonu (polymyxin, trimethoprim, vancomycin ve novobiocin) olduğunu bildirmişlerdir.

Ergeldi (106), 35 adet piliç örneğinin 21'inden (%60) termofilik *Campylobacter* türleri izole ettiği çalışmada, kültür tekniği olarak mCCDA ve *Campylobacter* Selective Agar (CSA) besiyerini kullanmış, her iki besiyerinin birlikte kullanımının tek başlarına kullanımına göre daha iyi sonuç verdiğini bildirmiştir. Pamuk (107) yaptığı çalışmada, *Campylobacter* spp. izolasyonunda tipik kolonilerin elde edilmesi ve istenilen seçiciliği sağlamasından dolayı mCCDA besiyerini kullanmış ve 240 piliç karkas örneğinin 141'inden (%67,1) termofilik *Campylobacter* izole ve identifiye etmiştir. Endtz ve ark (108), altı farklı besiyerinde *Campylobacter* türlerinin duyarlılığını araştırdıkları ve besiyerlerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, mCCDA besiyerinin istenen selektiviteyi sağladığını bildirilmiştir.

Çalışmamızda tavuk eti örneklerinden yıkama yöntemi ile elde edilen yıkantı sıvısından besiyerlerine direkt ekim yöntemi kullanılmıştır. Araştırmacılar (109, 110), kanatlı karkaslarından yıkama yöntemi ile elde ettikleri yıkantı sıvısından *Campylobacter* spp. izolasyonu için katı besiyerine direkt ekim tekniğini çalışılmaya değer bulunmaktadır. Bununla birlikte kanatlı hayvanların bağırsak içeriği ve karkas yıkama sıvısındaki *Campylobacter* spp. prevalansı düşünüldüğünde izolasyon için zenginleştirme işlemine çok sık gerek olmadığı, bu işlemin yapılması sonrasında ortaya çıkan suşların asıl izole edilmesi istenen tür veya türleri baskılayarak, elde edilecek verilerde yanıltıcı sonuçlara neden olabileceği bildirilmiştir (111).

Çalışmamızda da, yıkantı sıvısının üç farklı besiyerine direkt ekimi ile 100 tavuk eti örneğinin 94'ünden termofilik *Campylobacter* spp. izolasyonu sağlanırken (% 94), sadece 6 adet örnekte her üç yöntem negatif sonuç vermiştir. Negatif sonuç veren 6 örneğin tamamının tavuk göğüs etidir. Oyarzabal ve ark (105), 240 örneğin % 63,3'ünde termofilik *Campylobacter* spp. izole edilmiştir. Bulgularımıza göre bu çalışmadaki verilerin düşük olmasını parça kanatlı eti (but, kanat, göğüs) yerine sadece kanatlı karkası örneklerinin kullanılması ve selektif besiyerlerinin bileşiminde bulunan antibiyotik kompozisyonlarının farklılığı olarak düşünülebilir.

Wisessombat ve ark (112), klasik kültür yöntemi ile membran filtrasyon yöntemini karşılaştırdığı çalışmalarında, toplam 84 adet tavuk but eti, tavuk göğüs eti ve tavuk kanat etini termofilik *Campylobacter* spp. yönünden incelemişlerdir. 84 örneğin standart

kültür yöntemi ile (mCCDA+Bolton Broth) 7'sinden (% 8,3) ve *Campylobacter* enrichment broth besiyerine filtrasyon yöntemi ile 16'sından (%19,0) termofilik *Campylobacter* spp. izole edilmiştir. Kültür yöntemindeki pozitif örneklerin tamamının *C. coli*, filtrasyon yöntemindeki pozitif örneklerin 14'ünün *C. coli* ve 2'sinin de *C. jejuni* olduğu saptanmıştır.

Tang ve ark (113), sokak pazarları ve süpermarketlerde satışa sunulan 185 adet taze tavuk eti örneklerindeki termofilik *Campylobacter* spp. prevalansını sırasıyla % 70,7 ve % 91,4 olarak saptamışlardır. Bolton broth ile zenginleştirme sonrası mCCDA besiyerine ekim yönteminin kullanıldığı bu çalışmada elde edilen *Campylobacter* spp. prevalansı izolasyon yöntemlerinin farklılığına karşın bizim bulgularımız ile paralellik gösterdiğini söylemek mümkündür.

Çalışmamızda elde edilen bulgularda süpermarketlerden alınan tavuk örneklerinde *C. jejuni* prevalansının yüksek olmasına karşın *C. coli* prevalansının düşük olduğu görülmektedir. Sokak pazarları ve marketlerde satışa sunulan tavuk örneklerinden *C. jejuni*'nin sıklıkla izole edildiği buna karşın *C. coli*'nin daha az bulunduğu rapor edilen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (113, 114, 115). Türlerin prevalans oranındaki farklılığa, tavukların işleme aşamasında ve paketlenme işlemi sırasında çapraz kontaminasyonun ya da kullanılan alet ve ekipmandan kaynaklanan kontaminasyonun neden olduğu düşünülebilir.

Termofilik *Campylobacter* varlığının incelenmesine yönelik kullanılan bu yöntemlerde en sık kullanılan gereç olarak tavuk etinin dışında, kanatlı hayvanlara ait iç organlar, evcil/vahşi hayvanlar ve insanlara ait dışkı örnekleri de kullanılmaktadır. Ancak dünyanın birçok ülkesinde *Campylobacter* spp. kontaminasyonunun asıl kaynağının kanatlı etleri olduğu kabul görmektedir (116).

Türk Gıda Kodeksi (TGK) mikrobiyolojik kriterler tebliğinde (Tebliğ No: 2009/6), tüketime hazır kanatlı eti ve ürünlerinde termotolerant *Campylobacter* spp. bulunmaması gerektiği bildirilmektedir (117). Yasal değerlerin bu şekilde olmasına karşın Türkiye'de satışa sunulan taze piliç karkasında ve parça etlerinde (but, göğüs, kanat) *Campylobacter* spp. prevalansının genel olarak % 40,0-83,5 aralığında olduğu bildirilmiştir (118, 119, 120, 121).

Yıldız ve Diker (122) yaptıkları çalışmada, mezbaha işleme aşamasında karkasların göğüs, kanat, boyun ve budundan aldıkları 480 örneğin tümünden (% 100), satışa hazır

karkaslardan aldıkları 200 örneğin 195 inden (% 97.5) *Campylobacter* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, karkaslardan izole ettikleri 675 suşun 378'ini (% 56) *C. jejuni*, 281'ini (% 41.6) *C. coli*, ve 16'sını da (% 2.4) *C. lari* olarak tanımlamışlardır.

Araştırmamızda farklı yöntemlerle elde edilen termofilik *Campylobacter* izolasyonuna ait sonuçlar ile farklı ülkelerde benzer çalışmalardan elde edilen bulguların bir kısmı farklı çıkmıştır. Ancak tüketime sunulan tavuk etlerinde termofilik *Campylobacter* prevalansı diğer ülkelere nazaran ülkemizde daha yüksektir.

Bazı biyokimyasal testlerin güvenilirliğinin düşük olması etkenin tanımlanmasında yanıltıcı sonuçlara neden olabilir. *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve tanımlanmasında klasik yöntem ile moleküler yöntemin birlikte çalışılması daha hızlı ve güvenilir olacağı düşünülmektedir (123).

Araştırmamızda, tavuk etlerinden kültür tekniği ile elde edilen 100 örneğe ait termofilik *Campylobacter* türlerinin doğrulanması amacıyla mPCR tekniği uygulanmıştır. Bu amaçla *hipO* ve *glyA* genine özgü Wang ve ark (96) tarafından bildirilen primer çiftleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda üç farklı besiyerinden elde edilen 295 izolatın mPCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. mCCDA besiyerinden izole edilen 112 izolatın 78'i (% 69,7) *C. jejuni*, 34'ü (% 30,3) *C. coli*, CAT besiyerinden elde edilen 117 izolatın 85'i *C. jejuni* (% 72,6), 32'si *C. coli* (% 27,4) olarak tanımlanırken, kanlı mCCDA besiyerinden filtrasyon ile elde edilen 66 izolatın 55'i *C. jejuni* (% 83,3), 11'inin de *C. coli* (% 16,7) olarak saptanmıştır. İzolasyon oranının CAT besiyerinde, mCCDA besiyerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak bu iki besiyeri arasındaki farkın izolasyon oranı açısından önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Elde edilen veriler sonucunda termofilik *Campylobacter* türlerinin gıdalardaki varlığının ve çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkilerinin kanatlı hayvanların *Campylobacter* epidemiyolojisinde önemli bir role sahip olduğu görülmektedir. Bu tez çalışmasında kullanılan örneklerin tamamı süpermarketlerde tüketime hazır olarak sunulan ürünlerdir. Farklı üretici firmalar tarafından entegre tesislerdeki üretim proseslerinden geçerek mutfağımıza kadar gelen bu ürünlerin hijyenik kalitesinin istenen standartlarda olmadığı çalışmamızda elde edilen verilerde görülmektedir.

Üretici firmalar son üründe oluşabilecek mikroorganizmaların ya da diğer zararlıların tehlike arz etmesi bakımından tüketiciye ulaşmadan önce hangi aşamalarda olduğunun

tespiti ve önleme yöntemleri geliştirmede yetersiz kalmakta ya da hijyen yönetim sistemlerini artı maliyet olarak görmeleri nedeniyle uygulamamaktadır. Bu da satışa sunulan ürünün mikrobiyolojik açıdan riskli hale gelmesine neden olmaktadır. Bu nedenle hammaddenin temininden onu işleyecek elemanların seçimine, üretimde kullanılan makinelerden yan sanayi değerlendirmelerine, ürün kontrollerinden sevkiyata kadar hemen her aşamada tehlike analizlerinin yapılarak, mikrobiyolojik riski minimize edecek noktaların belirlenmesi gerekir. HACCP (Hazard Analysis At Critical Control Points), GMP (Good Manufacturing Practise) gibi gıda güvenliğine yönelik sistemlerin uygulanması gıdanın tüketiciye güvenli bir şekilde ulaşması açısından önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. WEB_1. (2011). İstanbul Ticaret Odası web site.
<http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-90.pdf> (18.02.2011).
2. Mead GC. Fresh and further-processed poultry. In: The Microbiological Safety and Quality of Food. Lund BM, Baird Parker TC, Gould GW. (ed), Vol I, Aspen Publ. Gaithersburg, Maryland, 2000; 445-471
3. ANON (1998). Poultry and poultry products. In: Microorganisms in Foods. 6. Microbiol Ecology of Food Commodities, International Commission on Microbiological Specifications for Foods, Blackie Academic & Professionals, London, 1998
4. World Health Organization. The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Report and proceedings of a WHO consultation of experts, WHO, Copenhagen, Denmark, 2000; p 9-28
5. WEB_2. (2011). USDA Foreign Agriculture Service web site.
http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrieval_Name_BroilerMeat+Summary+Selected+Countries&hidReportRetrievalID=1647&hidReportRetrievalTemplateID=7 (08.03.2011).
6. WEB_3. (2011). Türkiye İstatistik Kurumu web site.
http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=690 (14.03.2011).
7. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, et al. Human *Campylobacteriosis* in developing countries. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 237-43

8. Darka Ö, Yılmaz YA. Tavuk eti ve *Campylobacteriosis*. Hacettepe Tıp Dergisi 2004; 35:100-102
9. Nachamkin I. *Campylobacter jejuni*. In: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Doyle MP, Beuchat LR (ed), 3rd ed, Washington DC. ASM Pres, 2007, p 237-248.
10. Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni*-an emerging foodborne pathogen. Emerg Infect Dis 1999; 5(1): 28-35
11. Bryan FL, Doyle MP. Health risks and consequences of Salmonella and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. J Food Prot 1995; 58(3): 326-344
12. Butzler JP. *Campylobacter* from obscurity to celebrity. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 868–876
13. Smith T, Taylor MS. Some morphological and biological characters of *Spirilla* (*Vibriofetus* nsp.) associated with disease of fetal membranes in cattle. J Exp Med, 1919; 30: 299–311. In: *Campylobacter* from obscurity to celebrity. Butzler JP. Clin Microbiol Infect 2004; (10): 868-876
14. Jones FS, Orcutt M, Little RB. *Vibrios* (*Vibrio jejuni* n.sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. J Exp Med 1931; 53: 853–864. In: *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Butzler JP (Ed), Clin Microbiol Infect 2004; 10:868-876/88
15. Stern NJ, Kazmi SU. *Campylobacter jejuni* In: Doyle MP. Marcel D (Ed), Foodborne Bacterial Pathogens, Inc NY, 1989: 71-110
16. Walker R, Caldwell MD, Lee EC et al. Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis. Am Soc Microbiol 1986; 81-86
17. Doyle MP. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*: an old pathojen of new concern. J Food Prot 1981; 44: 480-488
18. Smibert RM. Genus *Campylobacter*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg, NR, Holt, JG. (Ed), Williams&Wilkins, Baltimore, London, 1984; p 111-118
19. Van Damme P, De Ley J. Proposal for a new family, *Campylobacteraceae*. Int J Syst Bacteriol 1991; 41(3): 451-455
20. On SLW. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: Current status, future prospects and immediate concerns. J Appl Microbiol 2001; 90: 1-15
21. Buck GE, Kelly MT. Effect of moisture content of the medium on colony morphology of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. J Clin Microbiol 1981; 14(5): 585-586
22. Hoffman PS, Blakenship LC. Significance of *Campylobacter* in foods. Dev In Food Microbiol 1986; 2: 91-122
23. Hazeleger W, Wouters J, Rombuts FM, Abee T. Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. Appl Environ Microbiol 1998; 64(10): 3917–3922

24. Skirrow MB. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. J Comp Path 1994; 111: 113-149
25. Bolton E. *Campylobacter* Infections: Food-borne sources and isolation methods. J. Food Microbiol 200; 724(4): 151-156
26. Corry JEL, Post DE, Colin P, et al. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. Int J Food Microbiol. 1995; 26(1):43-76
27. Park SF. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. Int J Food Microbiol 2002; 74: 177-188
28. Doyle MP, Roman DJ. Sensitivity of *Campylobacter jejuni* to drying. J Food Protect 1982; 45: 507-510.
29. Doyle MP, Roman DJ. *Campylobacter* spp. Appl Environ Microbiol 1982; 43: 1343-1353
30. Stern NJ, Patton CM, Doyle MP, Park CE, Mccardell BA. *Campylobacter* In: Compendium of methods for the microbiological examination of food. Vanderzant DF, Spilltstoesser DF (Ed), Washington DC, 1992: p 475-479
31. ANON (1996). *Campylobacter*. In: Microorganisms in foods. Characteristics of microbial pathogens. International Commission on Microbiological Specifications for Foods, James and James Ltd, United Kingdom, London, p 45-65
32. Purdy D, Cawthraw S, Dickinson JH, Newell DG, Park SF. Generation of a superoxide dismutase (SOD) deficient mutant of *Campylobacter coli*: evidence for the significance of SOD in *Campylobacter* survival and colonization. Appl Environ Microbiol 1999; 65(6): 2540-2546
33. Pesci EC, Cottle DL, Pickett CI. Genetic, enzymatic, and pathogenic studies of the iron superoxide dismutase of *Campylobacter jejuni*. Infect Immun 1994; 62 (7): 2687-2694.
34. Corry JEL, Atabay HI. Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. J Appl Microbiol 2001; 90: 96-114
35. Cudjoe KS, Kapperud G. The effect of lactic acid sprays on *Campylobacter jejuni* inoculated onto poultry carcasses. Acta Vet Scand 1991; 32(4): 491-498
36. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Environmental survival mechanism of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. J Appl Microbiol 2006; 100: 623-632
37. Moore JE. Bacterial dormancy in *Campylobacter*: abstract theory or cause for concern. Int J Food Sci Technol 2001; 36: 593-600
38. Buswell CM, Herlhy YM, Lawrence LM, et al. Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and rRNA staining. Appl Environ Microbiol 1998; 64(2): 733-741

39. Parkhill J, Wren BW, Mungall K, et al. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature* 2000; 403: 665-668
40. Coşansu S, Ayhan K. *Campylobacter* türlerinin olumsuz koşullarda canlı kalmalarını sağlayan fizyolojik özellikleri ve stres tolerans mekanizmaları. *HRÜZF Dergisi*, 2009; 13(4): 23-29
41. Hughdal MB, Beery JT, Doyle MP. Chemotactic behaviour of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 1988; 56: 1560-1566
42. Konkel ME, Kim BJ, Klena JD, et al. Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 1998; 66 (8): 3666-3672
43. Stirling DA, Hulton JS, Waddell L, et al. Molecular characterization of the proU loci of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* encoding osmoregulated glycine betaine transport systems. *Molecular Microbiol* 1989; 3: 1025-1038
44. Ketley JM. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol* 1997; 143(1): 5-21
45. Fererro RL, LEE A. Motility of *Campylobacter jejuni* in a viscous environment comparison with conventional rodshaped bacteria. *J Gen Microbiol* 1988; 134: 53-59
46. McSweeney E, Walker RI. Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. *Infect Immun* 1986; 53: 141-148
47. Wassenaar TM, Engelskirchen M, Park S, Lastovica A. Differential uptake and killing potential of *Campylobacter jejuni* by human peripheral monocytes/macrophages. *Med Microbiol Immunol* 1997; 186: 139-144
48. Ruiz-Palacios GM, Torres J, Torres NI, et al. Cholera-like enterotoxin produced by *Campylobacter jejuni* characterisation and clinical significance. *The Lancet* 1983, 2: 250-253
49. Wassenaar TM, Bleumnik-Pluym NMC, Van Der Zeijst BAM. Inactivation of *Campylobacter jejuni* flagellin genes by homologous recombination demonstrates that flaA but not flaB is required for invasion. *EMBO J* 1991; 10(8): 2055-2061.
50. Field LH, Headley VL, Payne SM, Bery J. Influence of iron on growth, morphology, outer membran protein composition and synthesis of siderophores in *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 1986; 54(1): 126-132
51. Wassenaar TM, Blaser MJ. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes Infect* 1999; 1: 1023-1033
52. Vliet AHM, Ketley JM. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. *J Appl Microbiol* 2001; 90(6): 45-56
53. Taylor DE, Courvalin P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. *Antimicrob Agent Chemother* 1988; 32(8): 1107-1112

54. Trachoo N. *Campylobacter jejuni*: An emerging pathogen. Songklanakarin J Sci Technol 2003; 25(1): 140-157
55. Altekruse SF, Tollefson KL. Human Campylobacteriosis: A challenge for the veterinary profession. J Am Vet Med Assoc 2003; 223(4): 445-452
56. ANON (2009). Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organisation. “*Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat: Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series No:19”, FAO/WHO, Rome, 2009; p 1-56
57. ANON (2010). Europe Food Safety Authority. “Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU,2008”, EFSA Journal, Parma, Italy, 2010; 8(3): 1503
58. Miller G, Dunn GM, Patmer AS, Ogden ID, Strachan NJC. Human Campylobacteriosis in Scotland: seasonality regional trends and bursts of infection. Epidemiol Infect 2004; 132: 585-593.
59. WEB_4. (2010). World Health Organisation web site. <http://www.who.int/foodsafety/micro/jemra/assessment/campy/en/> (16.02.2011).
60. WEB_5. (2011). CDC web site <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5514a2.htm> (21.04.2011).
61. WEB_6. (2011). European Union web site. http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/salmonella/06-Campylobacter_2001.pdf (19.03.2011).
62. WEB_7. (2011). National Disease Surveillance Center web site. <http://www.hpsc.ie/hpsc/AboutHPSC/AnnualReports/en.pdf> (10.02.2011)
63. Öztürk R, Midilli K, Okyay K, ve ark. Çocuk ve erişkin yaş grubu sürgün olgularında *Campylobacter jejuni* sıklığının araştırılması, Türk Mikrobiol Cem Der 1994; 24: 42-45
64. Gültekin A, Gökalp A, Bakıcı MZ, ve ark. Sivas yöresinde hastalık etkenleri. Enfeksiyon Derg 1987; 1(4): 239-246
65. Aktaş O, Tuncel E. Diyareli hastalarda *Campylobacter jejuni* yönünden bir araştırma. Mikrobiol Bül 1994; 21: 79-85
66. Arslan İ. Bölgemizde *Campylobacter* ishallerinin araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas, 1991; 45-50
67. Gençer B, Zarakolu P, Aktepe OC, Yurdakök K, Öncül Ö. Çocukluk çağı ishallerinde etken olarak *C. jejuni*. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, s 12, 1998, Antalya
68. Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, et al. *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. J Med 1995; 333: 1374-1379
69. Skirrow MB. *Campylobacter*. The Lancet. 1990; 336: 921-923

70. Snelling WJ, Matsuda M, Moore JE, et al. Under The Microscope *Campylobacter jejuni*. Lett in Appl Microbiol 2005; 41(4): 297–302
71. Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. J Infect Dis 1988; 157(3): 472-479
72. Nachamkin I, Allos BM, Ho T. *Campylobacter* species and Guillain-Barré syndrome. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 555-567
73. Smith JL. Arthritis, Guillain- Barré syndrome and other sequelae of *C. jejuni* enteritis. J Food Prot 1995; 58(10): 1153-1170
74. Newell DG, Fearnley C. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. Appl Environ Microbiol 2003; 69(8): 4343-4351
75. Whyte P, Mc Gill K, Cowley D, et al. Occurrence of *Campylobacter* in retails foods in Ireland. Int J Food Microbiol 2004; 95(2): 111-118
76. Harrison WA, Griffith CJ, Tennant D, Peters AC. Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. Lett Appl Microbiol 2001; 33: 450-454
77. ANON (2001). Food Standart Agency. “UK-wide Survey of Salmonella and Campylobacter Contamination of Fresh and Frozen Chicken on Retail Sale”, FSA, United Kingdom, 2000; p 1-34
78. Uyttendaele M, De Troy P, Debevere J. 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 1999; 62: 735-740.
79. Atanassova V, Ring C. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Germany. Int J Food Microbiol 1999; 51: 187-190
80. Meldrum RJ, Tucker D, Edwards C. Baseline rates of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw chicken in Wales, United Kingdom, in 2002. J Food Protect 2004; 67(6): 1226-1228.
81. Van Nierop W, Duse AG, Marais E, et al. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. Int J Food Microbiol 2005; 99(1): 1-6
82. Stanley KN, Wallace JS, Currie JE, Diggle PJ, Jones K. Seasonal variation of thermophilic *Campylobacter* in lambs at slaughter. J Appl Microbiol 1998; 84(6): 1111-1116
83. Kramer JM, Frost JA, Bolton FJ, et al. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. J Food Prot 2000; 63(12): 1654-1659

84. Devane ML, Nicol C, Ball A, et al. The occurrence of *Campylobacter* subtypes in environmental reservoirs and potential transmission routes. *J Appl Microbiol* 2005; 98(49): 980-990
85. Fahey T, Morgan D, Gunneburg C, et al. An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis associated with failed milk pasteurization. *J Infect* 1995; 31 (2): 137-143
86. Little CL, Louvois J. Health risks associated with unpasteurized goats and ewes milk on retail sale in England and Wales. *Epidemiol Infect* 1999; 122: 403-408
87. Jones K. *Campylobacters* in water, sewage and the environment. *J Appl Microbiol* 2001; 90: 68-79
88. Yang C, Jiang Y, Huang K, Zhu C, Yin Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. *FEMS Immun Med Microbiol* 2003; 38(3): 265-271
89. WEB_8. (2011). World Health Organisation web site.
http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSRAPH_2001.7.pdf (08.05.2011).
90. Keener KM, Bashor MP, Curtis PA, Sheldon BW, Kathariou S. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Food Safety* 2004; 3(2): 105-116
91. Humphrey TJ. The synergistic inhibition of *Campylobacter jejuni* by rifampicin and hydrogen peroxide. *Lett Appl Microbiol* 1990; 10: 97-100
92. Hazeleger WC, Beumer MM, Rombouts FM. The use of agglutination tests for determining *Campylobacter* species. *Lett Appl Microbiol* 1992; 14(4): 181-184
93. Madigan MT, Martinko, JM, Parker J. Amplifying the DNA: The Polymerase Chain Reaction. *Biology of microorganisms*. Pearson Education Inc. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA, 2003, p 312-314
94. Wassenaar TM, Newell DG. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66(1): 1-9
95. McPherson MJ, Moller SG. PCR: The basics from background to beyond. BIOS Scientific Publisher Limited. Oxford, UK, 2000: 3-5
96. Wang G, Clifford GC, Tracy MT, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clinical Microbiol* 2002; 40(12): 4744-4747
97. ANON (1995). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization 10272
98. Gorman R, Adley CC. An evaluation of five preservation techniques and conventional freezing temperatures of -20° C and -85° C for long term preservation of *Campylobacter jejuni*. *Lett Appl Microbiol* 2004; 38: 306-310

99. Englen MD, Cray PJF. Evaluation of commercial diagnostic PCR for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Lett Appl Microbiol 2002; 35(4): 353-356
100. On SLW, Harrington CS. Evaluation of numerical analysis of PFGE-DNA profiles for differentiating *Campylobacter fetus* subspecies by comparison with phenotypic, PCR and 16 sRNA sequencing methods. J Appl Microbiol 2001; 90(2): 285–293
101. Baylis CL, MacPhee S, Martin KW, Humphrey TJ, Betts RP. Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods. J Appl Microbiol 2000; 89: 884-891
102. Fricker CR. Procedures for the isolation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry. Int J Food Microbiol 1984; 1: 149-154
103. Corry JEL, Atabay HI. Comparison of the productivity of cephoperazone amphotericin teicoplanin (CAT) agar and modified charcoal cefoperazone deoxycholate (mCCD) agar for various strains of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter pullorum*. J Food Microbiol 1997; 38: 201–209
104. Acke E, Mc Gill K, Golden O, Jones BR, Fanning S, et al. Comparison of different culture methods for the recovery of *Campylobacter* species from pets. Zoonoses Public Health. 2009; 56: 490–495
105. Oyarzabal OA, Macklin KS, Barbaree JM, Miller SM. Evaluation of agar plates for direct enumeration of *Campylobacter* spp. from poultry carcass rinses. App Environ Microbiol 2005; 71(6): 3351–3354
106. Ergeldi S. Tavuk etlerinden termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
107. Pamuk S. Afyon’da paketlenmeden satılan piliç karkaslarında termofilik *Campylobacter* türlerinin saptanması ve *C. jejuni* izolatlarının PCR ile doğrulanması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006
108. Endtz HP, Ruijs GJHM, Zwinderman AH, et al. Comparison of six media, including a semisolid agar for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. J Clin Microbiol 1991; 29(5): 1007-1010
109. Line JE. A method for the enumeration of *Campylobacter* spp. from poultry rinses. Poultry Microbiological Safety Research Unit, USDA Agriculture Research Service, Athens, 2000
110. Line JE, Stern NJ, Lattuada C. Comparison of methods for recovery and enumeration of *Campylobacter* from poultry-rinse samples 1998; p. 389–392. In: Lastovica AJ, Newell DG and Lastovica EE (eds) *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms. The Rustica Press, Pinelands, South Africa

111. Koenrad PMFJ, Jacobs-Reitsma WF, Beumer RR, Rombouts FM. Short-term evidence of *Campylobacter* in a treatment plant and drain water of a connected poultry abattoir. *Water Environment Research* 1996; 68: 188-193
112. Wisessombat S, Kittiniyom K, Srimanote P, Wonglumsom W, Voravuthikunchai SP. A novel method and simple apparatus for the detection of thermophilic *Campylobacter* spp. in chicken meat products. *J Microbiol Meth* 2009; 76(2): 169–17
113. Tang JYH, Mohamad GF, Saleha AA, Nishibuchi M, Son R. Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. occurrence in two types of retail chicken samples. *International Food Research Journal* 2009; 16: 277-288
114. Denis M, Refrégier-petton J, Laisney MJ, et al. *Campylobacter* contamination in French chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Camp. Coli*. *J App Microbiol* 2001; 91: 255-267
115. Sallam KI. *Campylobacter* contamination in retailed chicken carcasses from Mansoura, Egypt and its relation to public health. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* 2001; 17: 157-169
116. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Amplifying the DNA: The Polymerase Chain Reaction. *Biology of microorganisms*. Pearson Education Inc. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA, 2003, p 312-314
117. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, 6 Şubat 2009, sayı: 27133.
118. Köksoy AG. Denizli yöresinde tüketime sunulan piliç etlerinde ve iç organlarında *Campylobacter* türlerinin varlığı, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001
119. Savaşçı M. Piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005
120. Ghalefka D. İstanbul piyasasında satışa sunulan çeşitli kanatlı eti ve et ürünlerinde *Campylobacter jejuni*'nin varlığı üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995
121. Çakmak Ö. Hindi etlerinde *Campylobacter jejuni*'nin kültür tekniği ve PCR ile saptanması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009
122. Yıldız A, Diker S. *Campylobacter* contamination in chicken carcasses. *Turk J Vet Anim Sci* 1992; 16: 433-439
123. Koluman A. Piliç kümesleri ve kesimhanelerinde *Campylobacter jejuni* kontaminasyonunun belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2010; 67 (2): 57-64

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Aytuğ BARIŞ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 1 Ekim 1979, Balıkesir

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 532 685 24 42

e_mail: aytugbaris_04@hotmail.com

Yazışma Adresi: Mevlana Mah. Papatya Cad. Asyakent Sit. Burcu Apt. 18/43 Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Uludağ Üniv. Vet.Fak.	2002
Ortaöğretim	Zühtü Özkardaşlar Lisesi, Balıkesir	1996

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2004 - Halen	Türk Silahlı Kuvvetleri	Gıda Kontrol Subayı

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR