

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

**SIĞIR KARKASLARINDAN VE ETLERİNDEN TERMOFİLİK
CAMPYLOBACTER SPP. İZOLASYONU VE İZOLATLARIN
ANTİBAKTERİYEL DUYARLILIKLARI**

**Hazırlayan
Aydın YAĞIZ**

**Danışman
Prof. Dr. Fuat AYDIN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ocak 2017
KAYSERİ**

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

**SIĞIR KARKASLARINDAN VE ETLERİNDEN
TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* SPP. İZOLASYONU VE
İZOLATLARIN ANTİBAKTERİYEL DUYARLILIKLARI**

**Hazırlayan
Aydın YAĞIZ**

**Danışman
Prof. Dr. Fuat AYDIN.**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
tarafından TSY-11-3415 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2017
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.

Aydın YAĞIZ

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sığır Karkaslarından ve Etlerinden Termofilik *Campylobacter* spp. İzolasyonu ve İzolatların Antibakteriyel Duyarlılıkları” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Aydın YAĞIZ

Danışman

Prof. Dr. Fuat AYDIN

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Fuat AYDIN

Prof. Dr. Fuat AYDIN danışmanlığında **Aydın YAĞIZ** tarafından hazırlanan “**Sığır Karkaslarından ve Etlerinden Termofilik *Campylobacter* spp. İzolasyonu ve İzolatların Antibakteriyel Duyarlılıkları**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

/ / 2017

JÜRİ

Danışman : Prof. Dr. Fuat AYDIN

Üye : Prof. Dr. K. Serdar DİKER

Üye : Doç. Dr. Seçil ABAY

İmza

**ONAY**

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

/ / 2017

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, , danışmanım, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fuat AYDIN'a, tezimin laboratuvar analizlerinde ve yazım aşamasında özverili bir şekilde destek olan Doç. Dr. Seçil ABAY'a, yardımlarından dolayı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. K. Semih GÜMÜŞSOY ve öğretim elemanı Araş. Gör. Emre KARAKAYA 'ya, tezimi TSY-11-3415 nolu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, ayrıca hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini üzerimden esirgemeyen çok kıymetli aileme yürekten teşekkür ediyorum.

Aydın YAĞIZ

Kayseri, Ocak 2017

SIĞIR KARKASLARINDAN VE ETLERİNDEN TERMOFİLİK CAMPYLOBACTER SPP. İZOLASYONU VE İZOLATLARIN ANTİBAKTERİYEL DUYARLILIKLARI

Aydın YAĞIZ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Ocak, 2017

Danışman: Prof. Dr. Fuat AYDIN

KISA ÖZET

Bu çalışmada, sığır karkaslarından ve etlerinden termofilik *Campylobacter* spp.'nin izolasyonu ve elde edilen izolatların çeşitli antibakteriyellere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 100 adet sığır karkas yüzey örneği ve farklı satış birimlerinden (kasap, süpermarket) alınan 100 adet sığır eti örneği (50 adet kıyma ve 50 adet parça et) materyal olarak kullanıldı. *Campylobacter* spp. izolasyonu için Bolton zenginleştirme besiyeri (Oxoid CM0983) ile Modified charcoal cephoperazone desoxycholate agar (mCCDA)'dan yararlanıldı. Elde edilen izolatların identifikasyonu fenotipik ve moleküler (mPCR) testler ile gerçekleştirildi. İzolatların amoksisilin-klavulonik asit, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, nalidiksik asit streptomisin ve tetrasiklin'e duyarlılıkları ise disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. İncelenen 100 adet sığır eti örneğinin 8 (%8)'i, 100 adet sığır karkas yüzeyinin ise 28 (%28)'i termofilik *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Et örneğinden elde edilen izolatların 6'sı *C. jejuni* ve 2'i *C. coli* olarak tanımlandı. Karkas örneğinden izole edilen 32 adet izolatın 26'sı *C. jejuni*, 3'ü *C. coli* ve 3'ü de *C. lari* olarak tanımlandı. Otuziki *C. jejuni* izolatının 6'sı enrofloksasin, 11'i nalidiksik asit ve 4'ü de tetrasikline dirençli bulundu. Analiz edilen sığır karkaslarının ve etlerinin çeşitli termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olması, bu etleri tüketen insanlarda *Campylobacter* enfeksiyonları açısından bir risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada *C. lari*'nin de izole edilmesi, farklı kontaminasyon kaynaklarından dolayı mezbaha hijyen kalitesinin artırılması zorunluluğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel duyarlılık, *Campylobacter* spp., mPCR, sığır eti, sığır karkas

**ISOLATION OF THERMOPHILIC *CAMPYLOBACTER* SPP. FROM
CATTLE CARCASSES AND MEATS AND ANTIBACTERIAL
SUSCEPTIBILITY OF ISOLATES**

Aydın YAĞIZ

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Veterinary Microbiology

Master Thesis, January 2017

Supervisor: Professor Dr. Fuat AYDIN

ABSTRACT

In this study, the isolation of thermophilic *Campylobacter* spp. from cattle carcasses and meats and the determination of susceptibility of the isolates to various antibacterials were aimed. For this purpose, 100 beef carcass surface samples and 100 beef samples (50 diced meat and 50 minced meat) taken from different retail units (butcher, supermarket) were used as a material. Bolton Broth (Oxoid CM0983) and Modified charcoal cephaloperazone desoxycholate agar (mCCDA) (Oxoid CM739) were used for the isolation of thermophilic *Campylobacter* spp. Identification of isolates was performed by phenotypic and molecular (mPCR) tests. Antibacterial susceptibility of the isolates to amoxicillin-clavulanic acid, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, streptomycin tetracycline and nalidixic acid was determined by disk diffusion method. Eight (8%) of the 100 beef samples and 28 (28%) of the 100 beef carcass samples were found to be positive for thermophilic *Campylobacter* spp. six and 2 isolates obtained from beef samples were identified as *C. jejuni* and *C. coli* respectively. In addition, twenty six, 3 and 3 of 32 isolates obtained from beef carcass samples were defined as *C. jejuni*, *C. coli*, and *C. lari* respectively. Six, 11 and 4 of 32 *C. jejuni* isolates were found to be resistant to enrofloxacin, nalidixic acid and tetracycline respectively. It is thought that the contamination of beef carcasses and meats with various species of thermophilic *Campylobacters* could pose a risk factor for *Campylobacter* infections in humans. In addition, due to isolation of *C. lari* in this study reveals that hygiene quality should improve in slaughterhouses.

Keywords: Antibacterial sensitivity, beef, beef carcass, *Campylobacter* spp., mPCR,

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	iii
ONAY.....	iv
TEŞEKKÜR	v
KISA ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	xi
TABLOLAR LİSTESİ	xii
RESİMLER LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Taksonomi	4
2.3. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Özellikleri.....	5
2.3.1. Morfolojik Özellikler	5
2.3.2. Biyokimyasal Özellikler.....	6
2.3.3. Fizyolojik Özellikler.....	7
2.4. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Gıdalarda Gelişimini Etkileyen Faktörler	7
2.4.1. Sıcaklık.....	7
2.4.2. Rutubet ve Su Aktivitesi	7
2.4.3. Sodyum Klorid (NaCl) Konsantrasyonu ve pH	8
2.4.4. Rekabetçi Floranın Etkisi	8
2.4.5. Oksijen duyarlılığı	8
2.4.6. Işınlanma.....	8
2.4.7. Kimyasal İnhibitörler	8
2.5. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Gıdalarda Canlı Kalmalarını Sağlayan Özellikleri	9
2.5.1. Canlı Fakat Kültüre Olamayan Form (VBNC)	10
2.5.2. Kokoid Forma Dönüşüm	10
2.5.3. Genetik Heterojenite	10
2.5.4. Biyofilm Formasyonu	11
2.5.5. Adaptif Tolerans Cevabı (ATR).....	11
2.6 <i>Campylobacter</i> Türlerinin Stres Tolerans Mekanizmaları.....	11
2.6.1. Soğuk Stresi.....	11
2.6.2. Sıcaklık Stresi.....	12
2.6.3. Oksidatif Stres.....	12

	Sayfa No
2.6.4. Asit Stresi.....	12
2.7. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Virülens Faktörleri.....	13
2.7.1. Flagella	13
2.7.2. Kemotaksis ve motilite.....	14
2.7.3. Adezyon ve İnvazyon.....	14
2.7.4. Toksin	15
2.7.5. Karbonhidrat yapılar.....	15
2.7.6. Demir İhtiyacı.....	16
2.8. Antibiyotiklere Dirençlilik.....	16
2.9. İnsanlarda <i>Campylobacter</i> Enfeksiyonları	17
2.9.1. İnsidans	17
2.9.2. Hastalığın Kaynağı	17
2.9.3. Enterik Enfeksiyon	17
2.9.4. Guillain-Barre Sendromu	17
2.10. Epidemiyoloji	18
2.11. <i>Campylobacter</i> Türlerinin Gıdalarda Bulunuşu.....	19
2.11.1. Kırmızı Et ve Et Ürünlerinde <i>Campylobacter</i> Türlerinin Varlığı	19
2.11.2. Kanatlı Eti ve Ürünlerinde Termofilik Kampilobakter Türlerinin Varlığı.....	20
2.11.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Termofilik Kampilobakter Türlerinin Varlığı	20
2.11.4. Su ve kaynaklarında Termofilik Kampilobakter Türlerinin Varlığı.....	21
2.12. Korunma ve Kontrol	21
2.13. İzolasyon ve İdentifikasyon Teknikleri	22
2.13.1. Klasik Kültür teknikleri	22
2.13.2. Moleküler İdentifikasyon Teknikleri	22
2.13.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR)	22
2.13.2.2. Diğer genotipik testler	23
2.13.3. Hızlı Testler	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Gereç	24
3.1.1. Sığır Karkas örnekleri	24
3.1.2 Sığır kıyma ve parça et örnekleri	25
3.2. <i>Campylobacter</i> spp. İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplement ve Diğer Kimyasallar	25
3.2.1. Bolton Broth Zenginleştirme Besiyeri	25

	Sayfa No
3.2.2. Modified Charcoal Cephoperazone Deoxycholate (mCCDA) Besiyeri	26
3.2.3. Kanlı Agar Besiyeri	27
3.2.4. Katalaz Test Ayracı	28
3.2.5. Oksidaz Test Kiti	28
3.2.6. Mikroaerobik Ortam Kitleri	28
3.3. Multipleks PZR İşleminde Kullanılan Malzemeler	28
3.3.1. Primer Çiftleri	28
3.3.2. TBE solüsyonu	29
3.3.3. Ethidium Bromide	29
3.3.4. Agaroj jel	29
3.3.5. Standart Suslar	30
3.3.6. DNA ekstraksiyon kiti	30
3.3.7. Antibakteriyel Duyarlılık Test Diskleri	30
3.4. Yöntem	30
3.4.1. <i>Campylobacter</i> spp.'nin izolasyonu	30
3.4.2. <i>Campylobacter</i> spp.'nin identifikasyonu	31
3.4.2.1. Gram Boyama ve Mikroskopik Muayene	31
3.4.2.2 Hareket Testi	31
3.4.2.3 Oksidaz Testi	31
3.4.2.4 Katalaz Testi	31
3.4.3. <i>Campylobacter</i> spp.'nin mPZR ile identifikasyonu	33
3.4.3.1 DNA Ekstraksiyonu	33
3.4.3.2 Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR)	33
3.4.3.3 Elektroforez ve amplifikasyon u□ru□nlerinin görü□ntu□lenmesi	33
3.4.4. Antibakteriyel Duyarlılık Testi	34
4. BULGULAR	35
4.1. Karkas örneklerinde <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları	35
4.2. Et örneklerinde <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları	35
4.3. Sığır karkaslarından izole edilen <i>Campylobacter</i> spp.'lerin antibakteriyel duyarlılık test sonuçları	36
4.4. Sığır etlerinden izole edilen <i>Campylobacter</i> spp.'lerin antibakteriyel duyarlılık test sonuçları	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	63

KISALTMALAR

FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
VBNC	: Viable but non-culturable cells
NaCl	: Sodyum Klorür
CO₂	: Karbondioksit
ATR	: Adaptif Tolerans Cevabı
ATP	: Adenozin Trifosfat
cAMP	: cAMP (cyclic adenosine monophosphate)
LPS	: Lipopolisakkarit
LOS	: Lipooligosakkarit
GBS	: Guillain-Barre sendromu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
PCR	: Polymerase chain reaction
mCCDA	: Modifiye Charcoal Cephooperazone Desoxycholate agar
MgCl₂	: Magnezyum klorür
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit

TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1.1. Dünya kırmızı ve beyaz et üretim miktarları (Bin ton).....	1
Tablo 2.1. <i>Campylobacter</i> identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testler.....	6
Tablo 2.2. Kimyasalların <i>C. jejuni</i> üzerine etkileri.....	9
Tablo 3.1. Sığır karkas örneklerinin firma ve gün dağılımı.....	24
Tablo 3.2. mPZR’de kullanılan primerler, ait olduğu gen bölgeleri ve beklenen bant büyüklükleri.....	28
Tablo 4.1. Sığır karkas ve et örneklerinden <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları	36
Tablo 4.2. Sığır karkaslarından ayrılan <i>Campylobacter</i> spp.’lerin antibakteriyel duyarlılıkları	37
Tablo 4.3. Sığır karkaslarından elde edilen izolatların tür bazında antibiyotik duyarlılık sonuçları	38
Tablo 4.4. Sığır etlerinden izole edilen <i>Campylobacter</i> spp.’lerin antibakteriyel duyarlılıkları	39
Tablo 4.5. Sığır karkası örneklerinin izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	40
Tablo 4.6. Sığır kıyma örneklerinin izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	42
Tablo 4.7. Sığır et örneklerinin izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	43

RESİM LİSTESİ

	Sayfa
	No
Resim 4.1. <i>Campylobacter</i> türlerine ait mPZR ürünlerinin %1.5 agaroz jel görüntüsü	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
	No
Şekil 2.1. Bakteriyal flagellanın temel görünümü	13
Şekil 3.1. <i>Campylobacter</i> spp. izolasyon ve identifikasyonu amacıyla kullanılan protokol	32

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda artan dünya nüfusu ile birlikte insanoğlu için en büyük uğraşlardan birisi, temel besin kaynağını oluşturan protein kaynaklarını artırmak olmuştur. FAO verilerine göre 2000 yılında, 1.47 milyar baş olan dünya büyükbaş hayvan sayısı (sığır ve manda) 2005 yılında 1.56 milyar başa, 2013 yılında ise 1.69 milyar başa ulaşmıştır. Küçükbaş hayvan sayısı (koyun ve keçi) 2000 yılında 1.86 milyar baş, 2005 yılında 2 milyar baş ve 2013 yılında 2,17 milyar baş seviyesine ulaşmıştır. 2000 yılında 16 milyar adet olan kanatlı hayvan varlığı ise yıllar itibarıyla sürekli artış göstererek 2013 yılında 23.9 milyar seviyesine ulaşmıştır. Görüldüğü üzere dünya büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı hayvan varlığı artış eğilimindedir. Kanatlı hayvan varlığı 2013 yılında 2000’li yılların başlangıcına göre %50 artış göstermiştir (1).

Tablo 1.1 Dünya Kırmızı ve Beyaz Et Üretim Miktarları (Bin ton) (1)

	Yıllar	2009	2010	2011	2012	2013
Dünya	Kırmızı Et	79864	80017	79739	80657	81668
	Büyükbaş	66462	66686	66333	66886	67706
	Küçükbaş	13402	13331	13406	13771	13961
	Beyaz Et	95062	99202	102249	105637	108648

Artan ihtiyaçları karşılamak için dünya çapında konvansiyonel üretime yönelik büyük bir dönüşüm yaşanmış ve artan bu konvansiyonel üretim ile birlikte de daha fazla gıda kaynaklı enfeksiyon insan sağlığını tehdit etmeye başlamıştır. Genellikle insanlarda gastroenteritise sebep olan bu tehditler az gelişmiş ülkelerde hastalıkların ve ölümlerin birincil sebebini oluşturmaktadır.

Gastroenteritis ile seyreden hastalıkların büyük bir çoğunluğu gıda kaynaklı olmakla birlikte az gelişmiş ülkelerde hastalıkların ve ölümlerin birincil sebebini oluşturmakta, global çapta her yıl 1.9 milyon kişinin ölümüne sebep olduğu tahmin edilmektedir (2). Gıda kaynaklı hastalıklar sıklıkla *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. ve *Escherichia coli* O157:H7. vb. patojen bakteriler ile kontamine hayvan karkaslarının ya da infekte hayvan etleri gibi hayvansal ürünlerin tüketimi sonucu şekillenmektedir (3).

Kampilobakteriozis dünya çapında insanlarda görülen bakteriyel kaynaklı gastroenteritin en önemli nedenlerinden biridir. Hastalık Kontrol Merkezleri raporlarına göre sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde tek başına, Kampilobakteriozis'in yılda yaklaşık 850000 kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. *Campylobacter*'ler yüksek bir mortalite oranı oluşturmasalar da, enfeksiyonun yılda 8000 hastaneye yatış ve 76 ölümle sonuçlanan vaka olduğu tahmin edilmektedir (4). Bu vakaların ise %90'ından *C. jejuni*'nin sorumlu olduğu bildirilmektedir (5).

Dünyadaki toplam et tüketiminde beyaz etten sonra en büyük payı kırmızı et oluşturmaktadır. Bu çalışmada sığır et ve karkaslarından termofilik *Campylobacter* spp.'nin izolasyonu, identifikasyonu ve elde edilen izolatların çeşitli antibakteriyellere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Campylobacter türleri, ilk kez 1886 yılında Theodor Escherich tarafından “kültüre edilmeyen ve spiral şekilli bakteri” olarak “chlorea infantum” sonucu hayatını kaybeden çocuklarda tanımlanmıştır (6, 7 ,8). Daha sonra varlığı ilk kez 1906 yılında iki İngiliz veteriner hekim tarafından gebe koyunların uteruslarında tespit edilmiştir (9, 10). Bu mikroorganizmalar 1913 yılında Mcfedyan ve Stockman tarafından aborte sığır fetuslarından izole edilmiştir (6, 8). Smith ve Taylor 1919 yılında sığır atık materyalinden izole ettikleri etkene *Vibrio fetus* ismini vermişlerdir (11). Daha sonra 1927 yılında ishalli sığır dışkılarında tespit edilen bu bakteriler *Vibrio jejuni* olarak adlandırılmışlardır. İshalli domuz dışkılarında, 1944 yılında, farklı bir tür tespit edilmiş ve *Vibrio coli* olarak adlandırılmıştır (6, 8). *Campylobacter* cinsine ait türler spiral görüntülerinden dolayı 1963 yılına kadar *Vibrio* cinsi içinde yer alan ancak Sebald ve Véron tarafından oksijenli ortamda ürememeleri, karbonhidratları fermente edememeleri ve DNA baz yapısındaki guanin + sitozin (G+C) oranlarının farklılıkları, bu yıldan itibaren *Campylobacter* olarak isimlendirilmelerine yol açmıştır (12).

2.2. Taksonomi

Vibrio fetus, 1963 yılından sonra *Campylobacter fetus* olarak adlandırılmıştır. *Campylobacter* genusu *Campylobacteraceae* familyası *Campylobacterales* takımı Epsilonproteobacteria sınıfı, Proteobacteria şubesinde yer almaktadır. Günümüzde ise *Campylobacter* cinsi 26 tür, 2 geçici tür ve 9 alttürden oluşur (13). Bu genusta yer alan *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ve *C. upsaliensis* 42 °C de üremelerinden dolayı termofilik kampilobakterler olarak da adlandırılırlar (14).

Domain : Bakteri

Şube : Proteobacteria

Sınıf : Epsilon Proteobacteria

Takım : *Campylobacterales*

Aile : *Campylobacteraceae*

Genus : *Campylobacter*

01. *Campylobacter avium*
02. *Campylobacter canadensis*
03. *Campylobacter coli*
04. *Campylobacter concisus*
05. *Campylobacter corcagiensis*
06. *Campylobacter cuniculorum*
07. *Campylobacter curvus*
08. *Campylobacter fetus*
 - 1) *Campylobacter fetus subsp. fetus*
 - 2) *Campylobacter fetus subsp. testudinum*
 - 3) *Campylobacter fetus subsp. venerealis*
09. *Campylobacter gracilis*
10. *Campylobacter helveticus*
11. *Campylobacter hominis*
12. *Campylobacter hyointestinalis*
 - 1) *Campylobacter hyointestinalis subsp. hyointestinalis*
 - 2) *Campylobacter hyointestinalis subsp. lawsonii*
13. *Campylobacter insulaenigrae*
14. *Campylobacter jejuni*

- 1) *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei*
- 2) *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*
15. *Campylobacter lanienae*
16. *Campylobacter lari*
 - 1) *Campylobacter lari* subsp. *lari*
 - 2) *Campylobacter lari* subsp. *concheus*
17. *Campylobacter mucosalis*
18. *Campylobacter peloridis*
19. *Campylobacter rectus*
20. *Campylobacter showae*
21. *Campylobacter sputorum*
 - 1) *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus*
 - 2) *Campylobacter sputorum* subsp. *sputorum*
22. *Campylobacter subantarcticus*
23. *Campylobacter upsaliensis*
24. *Campylobacter ureolyticus*
25. *Campylobacter volucris*

Liste 2.1. *Campylobacter* spp. Taksonomisi (15)

2.3. *Campylobacter* Türlerinin Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Özellikleri

2.3.1. Morfolojik Özellikleri

Kampilobakterler 0.2 ile 0.8 µm genişliğinde, 0.5 ile 5.0 mikron uzunluğunda Gram negatif, spiral veya kıvrık çubuk şeklinde sporsuz bakterilerdir. Türlerinin çoğu mono veya bipolar çıkan bir kılıfsız flagellum sayesinde tribişon tarzı hareket ederler (16). Kampilobakterler içerisinde *Campylobacter gracilis* haraketsizken, *Campylobacter showae* ise birden fazla flagellaya sahiptir (17). Kampilobakterler olumsuz üreme koşulları altında canlı kalabilen fakat üreyemeyen hücreler oluşturabilirler (VBNC; Viable but non-culturable cells) (18).

Campylobacter spp. izolasyonu için zenginleştirilmiş ortamlara ve selektif besi yerlerine ihtiyaç vardır. Besi yerlerinde *Campylobacter* spp.'lerin oluşturduğu koloni morfolojileri oldukça değişkenlik göstermektedir. Koloniler genellikle pigment

meydana getirmezler ve kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. Kolonilerin oluşması için ortalama 48-72 saat inkubasyon süresi gereklidir (19).

Campylobacter spp. için iki önemli koloni tipi bildirilmiştir. İlk tip düz, mukoid ve ıslak görünümlüdür. Büyük adacıklar şeklinde ürerler. Diğer tip ise yuvarlak, konveks veya şişkin bir görünüme sahiptir. Zaman zaman her iki koloni morfolojisinin de aynı anda üreyebildiği bildirilmiştir (20).

2.3.2. Biyokimyasal Özellikler

Campylobacter spp. mikroaerofiliktir, optimal üreme için düşük oksijen seviyesine (% 3 ila 5) ihtiyaç duyarlar; bununla birlikte, nispeten yüksek seviyede karbondioksit (% 2 ila 10) tercih etmektedirler. *Campylobacter* spp.'nin respiratuvar bir metabolizma türü vardır. Optimum üreme için anaerobik bir ortam gerektiren birkaç tür vardır veya düşük oksijen konsantrasyonlarında üremek için hidrojen ile fumarata ihtiyaç duyar. In vivo olarak, anaerobik üreme, *Campylobacter* spp.'nin bağırsak kolonizasyonunda ve hastalığa neden olma kabiliyetinde önemli bir faktör olabilir (21).

Campylobacter spp. katalaz ve oksidaz pozitiflerdir. Ancak *C. gracilis* oksidaz negatiftir (22). *C. jejuni subsp. doylei* hariç nitrat pozitiflerdir. İndol, asetoin ve metil red negatifken fumaratı, süksinata dönüştürürler (23).

Campylobacter spp.'nin üremesi için gerekli pH aralığının 4.9-9.5 olduğu, optimal pH değerinin 6.5-7.5 arasında değiştiği, 4'ün altındaki pH değerlerinde canlı kalamadıkları bildirilmiştir (24).

Çalışmalarda en sık izole edilen iki tür olan, *C. jejuni* ve *C. coli*'nin ayrımı için hippurat testi kullanılmaktadır. *Campylobacter jejuni* hippurat pozitifken, *C. coli* hippuratu hidrolize edemez (25).

Tablo 2.1 *Campylobacter* türlerinin identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testler (26).

	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Oksidaz	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+/-
Hippurate Hidrolizi	+	-	-	-

2.3.3. Fizyolojik Özellikler

Termofilik *Campylobacter* türleri, 37°C ile 42°C arasında üreyebilirler (optimum sıcaklık değeri 41.5°C’de), düşük sıcaklıkta adaptasyonda rol oynayan soğuk şok protein genlerinin yokluğu nedeni ile üreyemezler (27). *Campylobacter* spp. mikroaerofilik bakterilerdir. *Campylobacter* türleri için en ideal üreme ortamı %5-7 oksijen ve yaklaşık %10 karbondioksit içeren ortamdır (28, 29).

2.4. *Campylobacter* Türlerinin Gıdalarda Gelişimini Etkileyen Faktörler

2.4.1. Sıcaklık

Doğada termofilik olmasına rağmen, kampilobakterler ısı ile kolaylıkla inaktif olurlar ve pastörizasyon işlemlerinde veya tipik pişirme prosedürlerinde sağ kalmazlar. *C. jejuni*, üremesi için optimal ısının üstündeki sıcaklıklara maruz bırakıldıktan hemen sonra, hızla sentezlediği proteinler aracılığı ile ısıya şok cevabı sergiler (30).

Termofilik Kampilobakterler 30°C’nin altında üreme yeteneklerini kaybetmelerine karşın, oda sıcaklığında gıda maddelerinde üremedikleri, ancak canlılıklarını korudukları bildirilmiştir (31). Başka bir çalışmada ise sığır etinden yapılan kıyma ve kuşbaşıda iki farklı ısıda (+4°C ve -18°C) *C. jejuni*’nin varlığı incelenmiş ve çalışmanın 9, 45 ve 60. günlerinde giderek azalan bir aktivite saptanırken, araştırmacılar, çalışmanın 60. gününde ise etkeni yalnızca zenginleştirme besiyerinde üretebildiklerini bildirmişlerdir (32). Ayrıca farklı vakum ve paketlerde yapılan araştırmalarda -1.5 °C’de *C. jejuni*’nin hiçbir şansının kalmadığı tespit edilmiştir (33, 34). Dondurma-çözdürme işleminin ise *Campylobacter* spp. varlığını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir (35).

2.4.2. Rutubet ve Su Aktivitesi

Campylobacter spp. için optimum aw değerinin 0.997, minimum su aktivitesinin ise 0.987 olduğu bildirilmiştir (36). Kampilobakterlerin buzdolabı ortamında ya da %14’den daha düşük relatif nemde haftalarca canlı kalabildiklerini ancak oda sıcaklığındaki saklama ve kurutmaya oldukça duyarlı oldukları bildirilmiştir (37). Sığır karkaslarında soğutmadan önce yapılan örneklemelerde *Campylobacter* spp. insidensinin, soğutma yapıldıktan sonraki insidensten yüksek olduğu belirlenmiş ve bu durum; karkasların soğutulması esnasında uygulanan soğuk havanın karkasın yüzeyinde ve dokularda kurumaya sebep olması ile açıklanmıştır (36).

2.4.3. Sodyum Klorid (NaCl) Konsantrasyonu ve pH

Campylobacter jejuni için ideal tuz konsantrasyonunun % 0.5 olduğu, maksimum % 1.5 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterebildiği ve % 2'lik tuz konsantrasyonunda gelişim göstermediği, ancak nalidiksik aside dirençli termofilik kampilobakterlerin, %2'lik tuz konsantrasyonunda dahi üredikleri bildirilmiştir (38). *Campylobacter* spp.'nin üremesi için gerekli pH aralığının 4.9-9.5 olduğu, optimal pH değerinin 6.5-7.5 arasında değiştiği, 4'ün altındaki pH değerlerinde canlı kalamadıkları bildirilmiştir (24).

2.4.4. Rekabetçi Floranın Etkisi

Campylobacter türlerinin bulundukları ortamdaki doğal flora tarafından baskılandıkları bildirilmiştir (37, 38). Skirrow, Karmali, Preston ve Bolton gibi sıvı besiyerlerinde, besin öğelerince zengin kanlı agarda ve rekabetçi floranın baskılandığı CCD (Charcoal Cephoperazone Desoxycholate) agar gibi katı besiyerlerinde üremektedirler (37).

2.4.5. Oksijen duyarlılığı

Campylobacter jejuni mikroaerofil olarak kabul edilmekle birlikte, kısmen oksijen yoğunluğu % 21 olan atmosferlerde in vitro üremektedir (39). Bu organizmalar üremek için oksijene ihtiyaç duyarlar ancak yüksek oksijene duyarlıdırlar. *Campylobacter* spp. için optimum üreme için O₂ yoğunluğunun %2-10 arasında olduğu bildirilmiştir (40).

2.4.6. Işınlanma

Campylobacter türlerinin ultraviyole ışınlarına duyarlı oldukları ve kolayca inaktive olabildikleri, özellikle gastrointestinal sistem rahatsızlıklarının diğer bir sebebi olan *E.coli* den daha fazla duyarlı oldukları bildirilmiştir (41).

2.4.7. Kimyasal İnhibitörler

Campylobacter spp. için kuaterner amonyum bileşiği Mikro QUAT B, hidrojen peroksit ve potasyum sorbatın %1(w/v)'lik konsantrasyonda en etkili inhibitörler olduğu bunun yanında sodyum hipoklorit, askorbik asit, süksinik asit ve sodyum nitritin ise orta derecede etkili olduğu bildirilmiştir (42).

Tablo 2.2. Kimyasalların *C. jejuni* üzerine etkileri (42)

Kuvvetli Etki	Orta Derece Etki	Zayıf Etki
Amonyum Bileşiği*	Sodyum Hipoklorit	Nitrik Asit
Hidrojen Peroksit	Askorbik Asit	Edta
Potasyum Sorbat	Sodyum Nitrit	İodoformlar
	Süksinik Asit	Propionik Asit
		Sodyum Profosfatat
		Laktik Asit
		Sodyum Diasetat
		Fenol
		Trisodyum Fosfat

2.5. *Campylobacter* Türlerinin Gıdalarda Canlı Kalmalarını Sağlayan Özellikleri

Campylobacter spp. üremek için mikroerofilik atmosfer, nötr pH ve 37°C ila 42°C arasındaki sıcaklık gibi titiz üreme koşulları gerektirdiği için, oldukça kırılgan bakterilerdir. *Campylobacter* türleri içerisinde gıdalardan en çok izole edilen tür olan *C. jejuni*, perakende satış yerlerinde depolama koşulları esnasında, bulunduğu ortamdaki besin sınırlaması, yüksek veya düşük sıcaklık, düşük pH gibi etkenler sebebi ile olumsuz etkilenir. Bu bakteriler, 5'in altında düşük pH, 30 °C'nin altındaki sıcaklıklar, % 2.5'tan fazla tuz seviyesi, yüksek oksijen seviyeleri, yüksek sıcaklık ve kuruma gibi gıda ve kanatlı işletmelerinde kullanılan streslere karşı çok hassastır (43, 44). Bu bakteriler normal olarak diğer Gram negatif bakterilerde bulunan global sabit faz yanıt faktörüne (RpoS), oksidatif stres yanıt faktörlerine (SoxRS ve OxyR), soğuk şok proteinlerine (CspA) ve global ısı şoku tepki düzenleyicisine (RpoH) sahip değildirler. Bunların RpoD, FliA ve RpoN olmak üzere sadece üç sigma faktörüne sahip olduğu bulunmuştur (45). Bununla birlikte *C. jejuni*'nin gıdalarda canlı kalmasını sağlayan; canlı fakat kültüre olamayan form (VBNC), yüksek derecede genetik heterojenlik, biyofilm oluşumu, çubuk formdan kokoid forma dönüşüm ve tolerans adaptasyon cevabı gibi bir çok mekanizma bildirilmiştir (46).

2.5.1. Canlı Fakat Kültüre Olamayan Form (VBNC)

C. jejuni'nin çevresel stres koşullarına maruz kaldığında organizmanın hayatta kalmasına yardımcı olan canlı ancak kültüre olamayan bir form oluşturduğu bildirilmiştir (47). VBNC durgunluk hali olarak tanımlanır ve organizma olumsuz koşullarda, metabolik aktivitesini azaltarak canlı kalsa da, bu hali kültüre edilemez ve çoğalamaz. Metabolik aktiviteyi veya hücre bütünlüğünü ölçen canlılık testleri, bir organizmanın canlı veya ölü olup olmadığını ayırt etmek için kullanılır (48).

C. jejuni, 4°C'de uzun süreli inkübasyonu ile VBNC formuna dönüşmekte ve bu formdaki virülans genlerinin transkripsiyon seviyesinin düşmesine rağmen bakterilerin insan bağırsağındaki epitel hücrelerini istila etme kabiliyetini muhafaza edebilmektedir (49).

2.5.2. Kokoid forma dönüşüm

Organizmaların çubuktan kokoid şekline geçişi, organizmanın olumsuz koşullarda hayatta kalmasına yardımcı olduğu rapor edilmiştir (50). Bakterilerin kokoid şekline geçişle birlikte hücrelerinin kültüre edilmesinde azalma olduğu bildirilmiştir (51). Ayrıca araştırmacılar, *C. jejuni*'nin kokoid hale dönüşmüş formunun, hücre kültürü ortamındaki spiral halinden daha az virulent olduğunu da ortaya koymuşlardır (52).

2.5.3. Genetik Heterojenite

Campylobacter türlerinde tespit edilen genetik çeşitliliğin organizmanın olumsuz koşullarda hayatta kalmasına yardımcı bir mekanizma olduğu bildirilmiştir (46). *C. jejuni*'de bu genetik çeşitliliği kontrol eden moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Genetik çeşitliliğe 3 mekanizmadan birinin neden olduğunu ileri sürülmüştür: (1) nükleotidlerin ikame, ekleme veya silinmesiyle ortaya çıkan DNA'daki lokal sekans değişikliği (2) DNA parçalarının rekombinasyonu ile DNA sekanslarının yeniden düzenlenmesi, (3) dönüşüm, konjugasyon veya transdüksiyon yoluyla yatay gen transferi (53).

2.5.4. Biyofilm formasyonu

Campylobacter türlerinde çevresel faktörlere karşı başka bir tolerans mekanizmasının da biyofilm olduğu bildirilmiştir (54). Aerobik koşulların *C. jejuni*'deki biyofilm oluşumunu arttırdığı ve stres koşullarında bakterilerin hayatta kalmasına yardımcı olduğunu ve bu tür biyofilmlerin canlı planktonik hücrelere adeta bir rezervuar görevi yaptığı bildirilmiştir (55). Ayrıca son dönemlerde yapılan bir araştırmada, *C. jejuni*'nin insan bağırsaklarında mikrokoloniler ve biyofilm oluşturabildiği ve bunun hastalığın patogenezinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (56).

2.5.5. Adaptif Tolerans Cevabı (ATR)

Kampilobakterler gıda kaynaklı patojenler olarak belirlenmesine rağmen, bu organizmaların aerobik ve asidik stres dahil olmak üzere stresli çevre koşullarına tepkisi çok az bilinmektedir. Subfetal stres birçok bakteride uyarlanabilir bir tolerans tepkisine neden olur ve sonra ATR olarak bilinen bir mekanizma, organizma ölümcül bir strese maruz kaldığında koruma sağlar (57). *C. jejuni*'nin üreme sırasında ısıya dayanıklı bir hücre dışı protein salgıladığı ve bununla, asit ve ısı streslerine karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (58).

Asit ortamda ve aerobik koşullarda ATR mekanizmasının varlığı, *C. jejuni* patogenezi ile ilgili ipuçları verebilir. Etkenin çok düşük dozlarda (500 hücre) bulunması hastalığı şekillendirmeye yeterli olabilmektedir. Gıda ve çevrede *C. jejuni*'nin hayatta kalmasını 500 kat arttıran bir ATR mekanizmasının olması, etkenin, insanlarda ishale neden olabilecek kadar yüksek sayıda hayatta kalma yeteneği sergilemesinde önemli bir faktör olabilir (57).

2.6. Kampilobakter Türlerinin Stres Tolerans Mekanizmaları

2.6.1. Soğuk Stresi

C. jejuni'nin soğutma ve dondurma sıcaklıklarında iyi bir şekilde hayatta kaldığı bildirilmiştir (59). Termofilik kampilobakter 30°C ve altındaki sıcaklıklarda çoğalmasa da, oksijen tüketimi, ATP üretimi ve protein sentezi gibi metabolik aktivitelerin 4°C gibi düşük sıcaklıklarda çalıştığı bulunmuştur (60). *C. jejuni*'nin soğuk şoka maruz kalması, SodB gibi strese bağlı proteinlerin aşırı üretilmesine neden olur (61). Yine araştırmacılar enerji metabolizmasına katılan bir dizi genin, 5°C'de, 25°C'ye kıyasla daha yüksek oranda sentezlendiğini bildirmişlerdir (62).

Bu bulgular, *C. jejuni*'nin soğuk şok toleransı ve adaptasyon mekanizmasının anlaşılmasını sağlasa da, daha fazla araştırma ve genetik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (46).

2.6.2. Sıcaklık Stresi

Yüksek sıcaklıkta (55°C), *C. jejuni*'nin sadece 1 dakika hayatta kaldığı bildirilmiştir. Çünkü bu organizmalar diğer Gram negatif bakterilerde mevcut olan çeşitli ısı şoku yanıt faktörlerinden yoksundurlar (60). Yapılan bir çalışmada 56°C'de *C. coli*'nin logaritmik olmayan bir şekilde azaldığı bildirilmiştir. Bu durum *Campylobacter* spp.'lerin ısıl işlem gören gıdalarda canlılıklarını sürdürmeleri açısından önemli bir eşiği teşkil etmektedir (40).

C. jejuni'deki ısı şoku karşılığı için önerilen diğer alternatif mekanizmalar, sıcaklığa ve kolonizasyona yanıt veren iki bileşenli bir düzenleyici sistem olan RacRS regülatörü ve HrcA ve HspR'nin diğer ortologlarıdır (60). Son yıllardaki araştırmalar racR ve racS mutantlarının yetersiz üremesine, 42°C'de hayatta kalamadıklarına, motilitede azalmaya ve civcivlerde kolonize olmadıklarına işaret etmektedir. Bu bulgular, ısı şoku tepkisine bağlı hayatta kalma streslerinde RacRS düzenleyici sistemin önemini ortaya koymaktadır (64).

2.6.3. Oksidatif Stres

Campylobacter spp. mikroaerofiliktir ve oksidatif stres ile oksijen metabolizması tarafından üretilen toksik ürünlerle baş etmelidir. Bununla birlikte, bu organizmalar, bu duyarlılığın dayattığı kısıtlamalara rağmen, enfeksiyona neden olacak sayıda gıdada hayatta kalabilirler (63). Oksijen toleransı birçok çalışmada da bildirilmiştir (65). Hatta *Campylobacter* spp.'nin aerobik metabolizmaya uyum gösterebileceği bile ileri sürülmüştür (66).

2.6.4. Asit Stresi

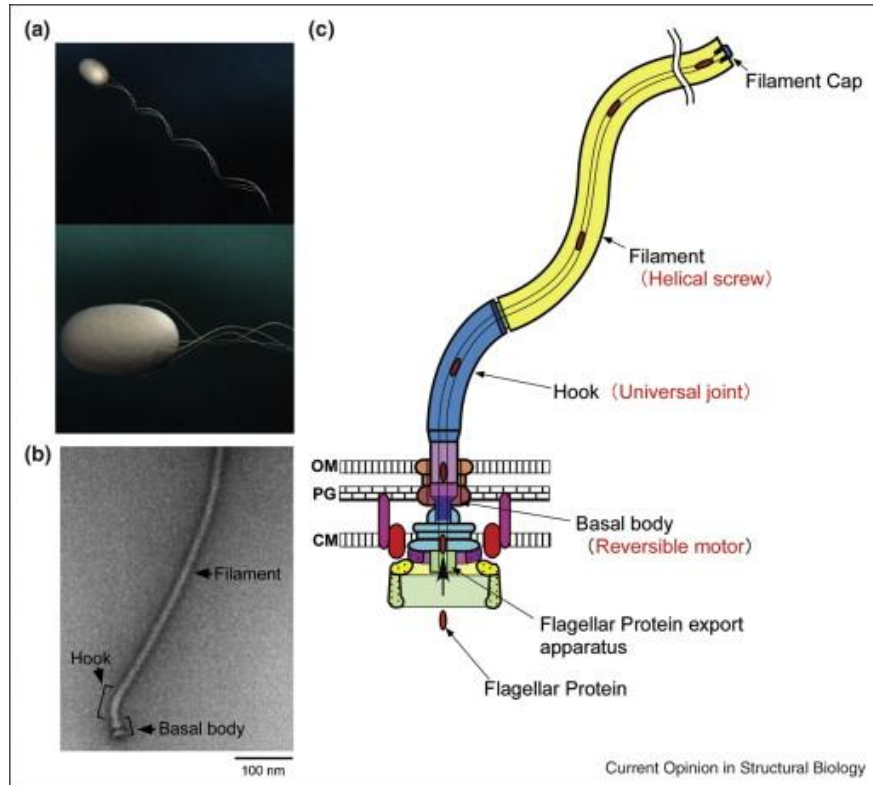
Gastrointestinal patojenler tarafından karşılaşılan en önemli bir stres durumu, yutulması üzerine midede asit pH ortamı ve bağırsak epitel hücrelerinin fagozomları fagolizozomları içerisinde sağ kalmaktır. Düşük pH da adaptasyon ve canlı kalabilme, gastrointestinal patojenlerin hastalık yapabilmesindeki en önemli faktörlerden biridir. Bugüne kadar birçok bakteri türünde düşük asidik ortamlara karşı bir cevap

mekanizması olarak ATR (adaptive tolerance response) denilen bir stres mekanizması görüldüğü bildirilmiştir (67). Bugüne kadar *Campylobacter* türlerine dair ATR mekanizmasının geliştiğine dair tek bir referans bulunmaktadır. Bu çalışmada kanatlıdan izole edilen bir *C. jejuni* izolatında yüksek asidik direnç tespit edilmiş ve bunun sebebinin de ATR mekanizmasını geliştirmesi olduğu bildirilmiştir (57).

2.7. *Campylobacter* Türlerinin Virülens Faktörleri

2.7.1. Flagella

Campylobacter türlerinin başlıca virülens faktörlerinden olan flagella tıpkı diğer bakteriyel flagellalar gibi, temel yapısı 3 parçadan oluşur; hücre duvarı içine gömülü olan ve flagellumun motorunu oluşturan bir bazal gövde, genel eklem görevi gören bir kanca ve pervane gibi görev yapan bir dış filamentten oluşur (68).



Şekil 2.1. Bakteriyel flagellanın temel görünümü (68)

Flagellanın dış aparatı 6 integral membran proteini (FlhA, FlhB, FliO, FliP, FliQ ve FliR veya homologları), üç çözünür komponent (FliH, Flil ve FliJ) ve sitoplazmik koruyucu proteinlerinden oluşur ve bunlar birlikte virulans faktörlerinin konakçı hücrelere translokasyonunda rol oynayan tip III salgılama sistemine (TTSS / T3SS) benzer bir mekanizma oluştururlar (68).

2.7.2. Kemotaksis ve motilite

Kemotaksis ve motilitenin *Campylobacter* spp.'lerin değişik çevre ortamlarında kolonizasyonunda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. *C. jejuni*'nin kemotaktik davranışları üzerine yapılan çalışmalarda, çeşitli aminoasitlerin (L-aspartat, L-sistein, L-glutamat ve L-serin), çeşitli organik asitlerin (piruvat, süksinat, fumarat, sitrat, malat ve ketoglutarat), L-fruktozun ve müsinin *Campylobacter* türleri için kemotaktik etki yaptığı ve bu etkinin bakteri kolonizasyonunu kolaylaştırdığı tespit edilmiştir (69). *Campylobacter* spp. nin hareketliliği için flagellumun yapılanması gerektiği ve flagellumun en iyi karakterize edilmiş virülens determinantı olduğu bildirilmiştir (70). Mide bariyerini geçen *C. jejuni*'nin, hastalık sürecini başlatabilmesi için bağırsak mukozal yüzeyine ulaşması ve kolonize olması gerektiği belirtilmiştir (71).

2.7.3. Adezyon ve İnvazyon

Campylobacter türlerinin bağırsak epitel hücrelerine ve mukus tabakasına tutunabilirliği detaylı araştırılmıştır. *Campylobacter* türlerindeki adezinlerin varlığına ilişkin olarak yapılan bir araştırmada, flagellalı, flagellasız, flagellası kısaltılan ve flagellası hareketsiz hale getirilmiş *Campylobacter* suşlarından flagellalı olanların, flagellası kısaltılan suşlara nispeten bağlanma kabiliyetinin yüksek olduğu, flagellasız suşların ise epitel hücrelerine ve mukus tabakasına hiç bağlanamadığı saptanmıştır. Bunun bir sonucu olarak flagella bir adezyon faktörü olarak tanımlanmıştır (72).

Kampilobakterler, ya intestinal mukoza tabakası içinde kalarak canlılıklarını devam ettirirler ya da bağırsak epitel hücrelerini işgal ederler. İnvazyon esnasında etkenler öncelikle epitel hücrelerine akın etmektedirler. In vivo ortamlarda yapılan çalışmalarda, kampilobakterlerin epitel hücrelerine invazyonu hücrede hasara, hücrelerin fonksiyonlarında kayıplara ve ishale neden olmaktadır. Bu sebeple invazyon, *C. jejuni*'nin patogenezinde önemli bir role sahiptir (73, 74).

2.7.4. Toksin

Campylobacter spp.'nin toksijenik doğasının ishale seyreden hastalıklardaki patogeneğinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Enteretoksin ve sitotoksin insandaki enteritiste rol oynayan iki toksin türüdür. Enterotoksinler konakçı hücre reseptörlerine bağlanır, hücrenin içine girer ve hücre içi cAMP seviyelerini yükseltir, oysa sitotoksinler hücrelerdeki hücre içi aktivite veya gözenek oluşumu yoluyla hedef hücreleri öldürür (75).

Terminolojide kullanılsa da birçok olguda enteretoksinin, *E.coli* ve *Vibrio* enteretoksinleriyle homolog olan sitotonik toksini temsil ettiği, sitotoksinlerin ise, orta veya yüzeye bağlı salgılanan ve hücrelere toksik etkisi olan diğer bütün faktörleri (protein tabiatındakiler) temsil ettikleri bildirilmiştir. *C. jejuni*'nin bazı türleri için düşük düzeyde sitotonik aktivite belirlenmiş olmasına rağmen, endotoksin genleri identifiye edilememiştir. Bu yüzden gözlemlenen düşük düzeydeki sitotonik etkilerin muhtemelen enteretoksine benzer şekilde etki gösteren diğer toksinler tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir. *Campylobacter* spp.'nin hücre üzerinde meydana getirdiği toksik etkilerin bir veya birkaç sitotoksine bağlı olduğu bildirilse de en az 6 farklı toksin veya toksin sınıfının varlığından söz edilmektedir (74, 75)

Sitotoksik özellikteki *Campylobacter* toksinleri şunlardır: (74)

- I. 70 kDa ağırlığındaki HeLa, Çin hamster ovaryumu ve diğer hücrelere etkili fakat Vero hücrelerine etkisiz toksinler
- II. Vero ve HeLa hücrelerine etkili toksinler
- III. Sitoletal distending toksin (CDT)
- IV. Stx antitoksini ile nötralize edilen toksinler, Shiga-like toksin
- V. Hemolitik aktivite gösteren toksin
- IV. Hepatotoksin

2.7.5. Karbonhidrat yapılar

Kampilobakterlerin hücre duvarı tıpkı diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi dışta lipoprotein bir tabaka, ortada lipopolisakkarit bir tabaka ve içte mukopeptidden oluşan 3 katmanlı bir yapı sergiler. Dış membranda yer alan, Lipopolisakkarit (LPS) ya da Lipooligosakkarit (LOS) yapı, kampilobakter türlerinin, major yüzey antijenlerini içermektedir (76). Çekirdeğinde bir oligosakkarit ve lipid A'dan oluşan LOS molekülü,

başıklık kaçınma , konakçı hücreye yapışma ve istila gibi çeşitli fonksiyonlara hizmet eder (77).

C. jejuni, 60'dan fazla periplazmik proteinin sentezinden sorumlu olan (flagellin ve hücre membranı proteinleri dahil), *pgl* çoklu gen lokusunda kodlanan N-linked glycosylation sistemine sahiptir (78). Sadece flagellin alt birimlerinde O-linked glycosylation sistemi ile modifiye olur (79).

Campylobacter enfeksiyonu sırasında bakteriye ait bu antijenik yapılara karşı gelişen antikor cevabı, sinir hücresi myelin tabakasındaki harabiyete sebep olur. Böylece, Guillain-Barre sendromu (GBS) ve Miller-Fisher sendromu olarak tanımlanan periferik sinir hücrelerinde myelin kaybına bağlı olarak gelişen nörolojik komplikasyonlar şekillenir (80).

2.7.6. Demir İhtiyacı

Demir bakterileri iki şekilde etkiler; ilk olarak bakterilerin üremesi için mikro bir besin kaynağıdır, ikincisi ise hidroksil radikallerinin oluşumu için bir katalizör olarak görev yapar (80). *Campylobacter* spp.'nin sahip olduğu *ceuE* geni; düşük molekül ağırlığındaki demir bağlayıcı bileşikler üretilerek dış ortama ait demir bileşiklerini kullanabilmelerinden dolayı önemli bir virülens faktörüdür. Ayrıca bu gen tarafından kodlanan demir transport sisteminin, invazyon sırasında konağa ait demir bağlayıcı proteinleri taşıdığı kaydedilmiştir (81, 82).

2.8. Antibiyotiklere Dirençlilik

Son yıllarda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde, hayvansal kökenli gıdalardan izole edilen *Campylobacter* türlerindeki antimikrobiyal direnç önemli bir kamu sağlığı sorunu haline gelmiştir (83, 84). Artan sayıda *Campylobacter* izolatında, florokinolon, makrolidler, aminoglikozidler ve betalaktamlar gibi diğer antimikrobik maddelere karşı direnç şekillendiği bildirilmiştir. Dahası, *C. jejuni* ve *C. coli*'deki direnç, penisilinlere ve sefalosporinlerin çoğuna olduğu kadar trimetoprim, sulfametaksazol, rifampisin ve vankomisine karşı da bildirilmiştir (85,86).

Artan bu antibiyotik dirençlilik ile insan ve hayvan sağlığında kullanılan antibiyotik miktarının arasında bir korelasyon olduğu ve çoğu zaman tedavi gerektirmeyen bu enfeksiyon çeşidine karşı kullanılan antibiyotiklere giderek artan düzeylerde direnç olduğu bildirilmiştir (87).

2.9. İnsanlarda *Campylobacter* Enfeksiyonları

2.9.1. İnsidans

Campylobacter spp., dünya çapında insanlarda görülen bakteriyel kaynaklı gastroenteritin en önemli nedenlerinden biridir. Hastalık Kontrolü Merkezleri raporlarına göre sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde tek başına, Kampilobakteriyozisin yılda yaklaşık 850000 kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. *Campylobacter* spp.'ler yüksek bir mortalite oranı oluşturmaları da, bunların yılda 8000 hastaneye yatış ve 76 ölümlle sonuçlandığı bildirilmektedir (4). Belirtilen bu vakaların yanı sıra sadece Amerika Birleşik devletlerinde dahi *Campylobacter* kaynaklı kaybın 1.5 milyar dolar civarında olduğu hesaplanmıştır (88).

2.9.2. Hastalığın Kaynağı

Kampilobakteriozis gıda kaynaklı bir enfeksiyondur (89). Çok düşük sayıda (500 bakteri) *Campylobacter* varlığının bile enfeksiyon oluşturabilir olması, *Campylobacter* spp.'leri insan sağlığı açısından önemli bir tehdit haline getirmektedir (90).

2.9.3. Enterik Enfeksiyon

Campylobacter spp., oral yoldan alınmasının ardından enfeksiyonun inkübasyon süresi 24-72 saattir. Bu süre, maruz kalınan organizma miktarı ile doğrudan alakalı olup bir haftaya kadar uzayabilir. Öncü semptomlar 24 saat sonra ortaya çıkar ve karın ağrısı, baş ağrısı, titreme, ateş gibi spesifik olmayan belirtilerdir. Hastalığın ilerleyen günlerinde ortaya çıkacak başlıca tipik semptomu, kramp şeklinde karın ağrısıdır, bazen o kadar ağırdır ki apandisitinden ayırt edilemez. *C. jejuni* ile ilişkili ishal, bireylere ve enfeksiyon şiddetine bağlı olarak hafif ila ağır kanlı dizanteri arasında değişiklik gösterebilir (91). Birçok vaka da herhangi bir antimikrobiyal tedaviye gerek kalmaksızın 5-8 gün arasında kendiliğinden iyileşme gösterir (90).

2.9.4. Guillain-Barre Sendromu

Guillain-Barre sendromu (GBS), kampilobakter enfeksiyonlarında her 1000 vakanın 1'inde rastlanan ciddi bir sendromdur. Guillain-Barre sendromunda etken periferik sinir sisteminde polinöropati şekillendirerek nöromüsküler felce neden olur. Sinir hasarı o kadar şiddetlidir ki Guillain-Barre sendromu görülen vakaların %5'inde felç yada ölümler görülebilmektedir. Guillain-Barre sendromu enfeksiyondan 1-3 hafta sonra

ortaya çıkar. Bu sendrom, etkenin hücre duvarında bulunan lipooligosakkarit yapıya şekillenen antijenik yanıt sebebiyle ortaya çıkar. Guillain-Barre sendromunun; AIDP (Acute inflammatory demyelinating polyneuropathy), AMAN (acute motor axonal neuropathy), MFS (Miller Fischer syndrome) şeklinde 3 formu olduğu bildirilmiştir (92).

2.10. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2013 yılına dair yayınladığı raporunda yüksek gelirli olarak belirtilen ülkelerde campylobacter kaynaklı gastroenteritis insidansının her 1000 kişide 4.4-9.3 arasında olduğunu bildirmiştir (93). Son on yıl içinde ise bu toplam rakam içerisinde küresel anlamda enfeksiyonun arttığı bildirilmiştir. Kampilobakteriyoz vakalarının sayısı Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'da artmıştır. Afrika, Asya ve Orta Doğu'daki epidemiyolojik veriler yetersiz olsa da, bu veriler *Campylobacter* enfeksiyonunun bu bölgelerde endemik olduğunu göstermektedir (13).

Amerika Birleşik Devletleri'nde CDC'nin (Center For Disease Control and Protection) 2012 yılında yayınladığı rapora göre *Campylobacter* kaynaklı enfeksiyonların 2006-2008 *Vibrio* enfeksiyonlarından sonra %14 lük artışla ikinci sırada olduğu bildirilmiştir. Yine Amerika Birleşik Devletlerinde 7 farklı eyalette 2004-2009 yılları arasında yürütülen çalışmada bildirilen 8270 gıda kaynaklı enfeksiyon vakasında 9 etken tespit edilmiş ve 3445 vaka ile (%41.7) ilk sırada *Campylobacter* enfeksiyonlarının olduğu, bunu sırayla %36.7 ile *Salmonella* ve %13 ile *Shigella* enfeksiyonlarının izlediği bildirilmiştir (13).

Avrupa Birliği Gıda Güvenliği otoritesinin yayınlamış olduğu raporda da yine 2010 yılında 212064 *Campylobacter* vakasının görüldüğü ve bu rakamın 2009 yılına göre %7' lik bir artış gösterdiği ifade edilmiştir (94).

Almanya'da 2001 ile 2010 yılları arasında bildirilen *Campylobacter* vakalarının incelendiği bir çalışmada 588308 Kampilobakteriyozis vakası kaydedilmiştir. Yıllık ortalama insidans, 2001'de her 100.000 nüfus için 67 iken bu oran 2010 yılına gelindiğinde her 100.000 nüfus için 80'e yükselmiştir. Enfeksiyonun mevsimsel dağılımında; yaz aylarında daha yüksek ve Ocak ayında daha düşük oranda gözlemlendiği bildirilmiştir. Hastalığın yaş dağılımı çıkartıldığında en yüksek insidansın, 4 yaşın altındaki çocuklarda ve 20-29 yaşlarındaki genç erişkinlerde olduğu görülmüştür. Özellikle Almanya'daki kırsal bölgelerde yaşayan küçük çocukların *Campylobacter*

enfeksiyonu açısından en riskli grupta olduğu bildirilmiştir (95).

Kanada'da yapılan bir çalışmada 1997 ve 2001 yılları arasında incelenen toplam 44451 olgudan sekiz patojenin (*Campylobacter*, *Salmonella*, verotoksijenik *E.coli*, *Yersinia*, *Shigella*, Hepatit A, *Listeria*, *Clostridium*) tespit edildiği ve her 100.000 birey için 42.3 kişi ile en yüksek görülme sıklığının *Campylobacter* spp.'ye ait olduğu bildirilmiş ve bu olguların %68'inde enfeksiyon kaynağının et olduğu bildirilmiştir (96).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada Ocak 2000-Aralık 2004 tarihleri arasında 6835 dışkı örneğinden toplam 82 (%1.2) *Campylobacter* spp. izole edildiği ve bu suşların 69'unun (%84) *C. jejuni*, 5'inin (%6) *Campylobacter* spp., 4'ünün (%5) *C. upsaliensis*, 2'sher izolatın ise (%2) *C. coli* ve *C. lari* olduğu saptanmıştır (97). Başka bir çalışmada ise 2008-2011 yılları arasında tespit edilen 53 adet *Campylobacter* suşunun %86,8'inin çocuk hastalardan (yaş ≤ 16) izole edildiği bildirilmiştir (98).

2.11. *Campylobacter* Türlerinin Gıdalarda Bulunuşu

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

İngiltere'de yapılan bir çalışmada 2003-2005 yılları arasında 3959 ham kırmızı et incelenmiş ve et örneklerinin %7.2'sinde *Campylobacter* spp. tespit edilmiştir. Kuzu etinde %12.6, domuz etinde % 6.3 ve sığır etinde % 4.9 oranında *Campylobacter* spp. bulunduğu bildirilmiştir (99).

Kore'de 2001 ve 2006 yılında incelenen 500 kırmızı et örneğinde (250 adet sığır ve 250 adet domuz) domuz eti örneklerinde %1.6 oranında, sığır eti örneklerinde ise %1.2 oranında *Campylobacter* spp. izole edildiği bildirilmiştir (100).

Pezotti ve ark. (101), 2003 yılında yayınladıkları çalışmada 151 sığır eti örneğinin 2 (% 1.32)'sinden *Campylobacter* spp. izole ettiklerini ve her iki izolatın da *C. jejuni* olduğunu bildirmişlerdir.

Vipham ve ark. (102) 2010 yılında yaptıkları çalışmada parça ette %17.24 oranında, kıymada ise %7.35 oranında *Campylobacter* spp. izole etmişlerdir.

İran'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar inceledikleri 90 adet kırmızı et örneğinin 21 (%23)'inin *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğunu, bu izolatların 13(%61.9) 'ünün *C. jejuni*, 6(%28.6)'sının *C. coli* ve 2(%9.52)'sinin *C. lari* olduğunu bildirmişlerdir (103).

2.11.2. Kanatlı Eti ve Ürünlerinde Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

İtalya’da 2011-2014 yılları arasında Lazio bölgesinde bulunan işleme tesislerinden ve perakende satış mağazalarından alınan toplam 209 adet kanatlı eti incelendiğinde bu etlerin 162 adetini oluşturan tavuk etlerinden toplamda 11 (%6.8) adet *Campylobacter* spp. izole edildiği bildirilmiştir. Bu 11 izolatın 7(%63.63)’sinin *C. coli*, 3(%27.27)’ünün *C. jejuni* ve 1 izolatın ise başka bir tür olduğu bildirilmiştir (104).

Polonya’da 2009-2013 yılları arasında perakende satış yerlerinden toplanan 1400 kanatlı eti örneğinden 690 (%49.3)’ında termofilik *Campylobacter* türü tespit edildiği bildirilmiştir. Tavuk etlerinde elde edilen izolatlardan en yüksek insidansa sahip olan tür *C. jejuni* (%46.6) olarak belirlenirken, hindi etlerinden en fazla izole edilen tür *C. coli* (%71.2) olarak tespit edilmiştir (105).

Wong ve ark. (106) tarafından yapılan bir çalışmada 2003-2004 yılları arasında incelenen 230 kanatlı eti örneğinden, 205 (%89.1) adetinin *C. jejuni* ya da *C. coli* ile infekte olduğunu bildirmişlerdir. Bu örneklerden 199 (%86.5) adeti *C. jejuni* ile kontamine iken, 1 (%0.4)’i *C. coli* ile, 5 (%2.2)’i ise hem *C. jejuni* hemde *C. coli* ile infekte olarak bulunmuştur (106).

Fransa’da incelenen 361 adet tavuk etinden 275(%76) ’inden *Campylobacter* spp. tespit edildiği ve bu izolatların %46.5’inin *C. jejuni* olduğu, %34.9’un *C. coli* olduğu ve %18.2’sinin ise her iki türle de kontamine olduğu tespit edilmiştir (107).

Ülkemizde ise Elazığ ilinde yapılan bir çalışmada araştırmacılar, toplam 264 adet kanatlı eti örneğinden 110(%41.7)’nin *Campylobacter jejuni* ve 38(%14.4)’inin *Campylobacter coli* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir (108).

2.11.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Kampilobakterlere ilişkin ilk büyük gıda zehirlenmesinin 1938 yılında kontamine sütün tüketilmesi sebebi ile olduğu bildirilmiştir (109). Amerika birleşik devletlerinde 2007 ile 2009 yılları arasında pastörize edilmemiş süt kaynaklı 30 gıda zehirlenmesi bildirilirken bu sayı, 2010-2012 yılları arasında 51 olarak bildirilmiştir (110). 2015 yılında toplam 240 adet süt ve süt ürünü örneği (85 bufalo sütü, 65 inek sütü, 30 peynir, 30 dondurma ve 30 panir (Bir tür peynir)) ile yapılan bir çalışmada araştırmacılar çiğ süt örneklerinin 7(%2.91)’sinin *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğunu ve tüm izolatların *C. jejuni* olduğunu, buna rağmen süt ürünlerinin tamamının *Campylobacter* spp. yönünden negatif olduğunu bildirmişlerdir (111).

2.11.4. Su ve kaynaklarında Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Varlığı

Kuzey İrlanda da yapılan bir çalışmada çeşitli su kaynakları (gölet, ırmak, deniz, şişelenmiş su, havuz suyu, musluk suyu vb.) *Campylobacter* yönünden incelenmiş ve incelenen toplamda 768 su örneğinden sırayla arıtılmamış kuyu suyunun %9.1 oranında, arıtılmamış yüzey sularından %41.7 oranında ve arıtılmamış nehir sularında %87.5 oranında *Campylobacter* spp. tespit edilmiştir (112). Yine Yunanistanın kuzeyinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada incelenen 500 su örneğinden 5(%1)'inin *C. jejuni* ile kontamine olduğu bildirilmiştir (113).

2.12. Korunma ve Kontrol

Campylobacter spp.'lerin gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olduğu düşünüldüğünde alınacak önlemlerinde bu ekseninde olması zorunluluğu doğmaktadır.

Campylobacter spp.'nin en önemli bulaşma kaynaklarından biri kanatlılardır. Kanatlı kaynaklı özellikle derisi ile oluşabilecek bulaşmaları azaltmaya yönelik olarak; haşlama yönteminin uygulanabileceği, karkasta ve deride mevcut olan *Campylobacter* sayısını önemli derecede azalttığı ancak tamamen yok edemediği bildirilmiştir (113). Ayrıca bu işlemin etkili olabilmesi için, işlem esnasında suyun pH'ının 3-4 arasında olması gerektiği, *Campylobacter* türlerinin pH 7'de yüksek sıcaklıklara oldukça dirençli olduğu bildirilmiştir (114). Bu yöntemin dışında karkasların kesimden sonra 20 ppm klorin içeren su ile durulanmasının varolan mikrobiyal yükü azalttığı da bildirilmiştir (115). Karkasların soğutulmasının da *Campylobacter* varlığını azalttığı, ancak soğutmanın suyla yapılması durumunda kros kontaminasyon şekillenebileceği bildirilmiştir (113). Karkasların dondurulmasının ise *Campylobacter* spp.'lere karşı etkili olduğu ancak bu etkinliğin sıcaklık, depolama zamanı ve dondurma koşulları gibi faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir (116).

Sığır karkaslarına uygulanan 20-24 saatlik soğutmanın *Campylobacter* sayısını önemli derecede azalttığı ancak tamamen yok edemediği de bildirilmiştir (117).

2.13. İzolasyon ve İdentifikasyon Teknikleri

2.13.1. Klasik Kültür teknikleri

Campylobacter türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda standart veya yaygın bir yöntem belirtilmemiştir. *Campylobacter* türlerinin özellikle de termofilik türlerin izolasyonunda çeşitli selektif agarlar, kanlı ya da kansız agarlar kullanılmaktadır (118).

Campylobacter türlerinin izolasyonunda Bolton, mCCDA(Modifiye Charcoal Cephoperazone Desoxycholate agar), Brucella-FBP, Doyle ve Roman, Park ve Sanders, Hunt ve Randle, Hunt, Preston gibi zenginleştirme besi yerleri kullanılır (119). Zenginleştirme besiyerlerine ekilen örnekler genellikle mikroaerofilik ortamda inkübe edilir (%5 O₂, %10 CO₂ ve %85 nitrojen), böylelikle aerob olarak üreyen diğer bakterilerin çoğalması engellenmiş olur (120).

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 kullanılmaktadır. Oksijenin toksik etkisinden korumak için ise besiyerlerine, defibrine kan, kömür, ferro sülfat, sodyum metabisülfid, sodyum piruvat ve hemin gibi maddeler katılmaktadır (121).

2.13.2. Moleküler İdentifikasyon Teknikleri

Moleküler identifikasyon teknikleri *Campylobacter* spp. için hızlı ve spesifik yöntemlerdir. Spesifik DNA segmentlerini tespit ederek bakterilerin varlığını tespit etmenin yanı sıra tür hatta alt türlerin ayırımında da hızlı ve kolay bir şekilde kullanılırlar (122).

2.13.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonunun *Campylobacter* izolasyonunda ilk olarak 1992 yılında kullanıldığı bildirilmiştir (123). Geçen bu süre zarfında PCR, *Campylobacter* spp. izolasyonunda en fazla kullanılan moleküler yöntem haline gelmiştir. Yalnızca *Campylobacter* spp.'ler için spesifik olan genler PCR metodunda *Campylobacter*lerin varlığını tespit etmek ya da türlerin ayırımını yapmak için kullanılır. PCR tabanlı metodların üreticileri, PCR ile moleküler identifikasyon yapılacak örneklerde, özellikle hasar görmüş hücrelerin sayısını artırmak ve identifikasyon yapılabilecek sayıya ulaştırabilmek için protokollerinde ön zenginleştirme önerirler (122).

PCR, bakteri DNA sının çift sarmal yapısının açılması, daha sonra açılan her bir tek sarmalın tekrar replike olarak çoğalması ve bunun tekrarlayan döngüler halinde devam etmesi ile başlar ve genetik materyal tespit edilecek düzeye gelinceye kadar devam eder. PCR amplifikasyonu bahsedilen bu işleme, yani DNA replikasyonuna dayanır. Bu işlem birçok protein ve enzimin yardımı ile gerçekleşir. Bu zincir reaksiyon 3 basamak halinde gerçekleşir;

- Denatürasyon; Yüksek sıcaklık kullanılarak DANN'nın çift sarmallı yapısının tek sarmallı hale gelmesi
- Primer Eşleşmesi; Primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin hedef DNA'ya bağlanması
- Primer Uzaması; DNA polimeraz sayesinde primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirlerinin uzaması.

PCR reaksiyonunda özel bir gen sekansını çoğaltmak için tek bir primer çifti kullanılırken, multipleks (çoğul) PCR'da birçok sekansı eş zamanlı çoğaltmak amacı ile birden fazla primer çifti kullanılır (124).

2.13.2.2. Diğer genotipik testler

Günümüzde *Campylobacter* türlerinin moleküler tiplendirilmesinde, MLST (Multilocus sequence typing), flaA-RFLP(restriction fragment length polymorphism), PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis) ve REP-PCR (Repetitive extragenic palindromic polymerase chain reaction (REP-PCR) testleri de kullanılmaktadır (120).

2.13.3. Hızlı Testler

Campylobacter spp.'lerin izolasyonunda; mikroorganizma sayısını tespit etmeye yönelik: Simplate (Biocontrol), *Campylobacter* ID agar (bioMerieux), Brilliance CampyCount Agar (Oxoid), immünolojik teknikler kullanan: 3 M Tecra Visual İmmunoassay VIA (3 M), Assurance Gold *Campylobacter* EIA (Biocontrol), Transia Plate *Campylobacter* (Biocontrol), VIDAS system (bioMerieux), biyokimyasal teknikler kullanan: Biolog mikrobiyal identifikasyon sistemi, Vitek 2 system (bioMerieux) ya da moleküler teknikler kullanan; Phenotype Microarrays (Biolog), BAX System Real Time PCR Assay (Dupond), kalitatif tespit için *Campylobacter* DNA PCR kitleri (Biotecon Diagnostics), RiboPrinter, Mikrobiyal karakterizasyon (Dupond) sistemler mevcuttur. Ayrıca serolojik hızlı testler de (Dryspot *Campylobacter* test (Oxoid)) bulunmaktadır (120).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Sığır Karkas örnekleri

Çalışmada, Kayseri bölgesinde kesim yapan 4 farklı firmanın kesimhanelerinden 100 adet sığır karkası üzerinden alınan örnekler kullanıldı. Örnekler, steril distile su emdirilmiş iki adet gazlı bezin, baş aşağı asılmış olan karkasın göğüs bölgesi, butların iç ve dış kısmı ve pelvik bölgesine sürülmesi yardımı ile alındı. Her iki bezde steril bir plastik kabın içerisine konularak ağzı sıkıca kapatıldı. Numuneler soğuk zincirde laboratuvara getirilerek aynı gün içerisinde analize tabi tutuldu. Örnekler, Mart-Haziran 2012 tarihleri arasında toplandı. Örneklerin alındığı firmalar ve her ziyarette alınan örnek sayısına ilişkin bilgiler Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Sığır karkas örneklerinin firma ve gün dağılımı

Firma Ziyaret	A	B	C	D	Toplam
1.	10*	0	0	0	10
2.	0	10	0	0	10
3.	0	0	10	0	10
4.	0	0	0	10	10
5.	10	0	0	0	10
6.	0	10	0	0	10
7.	0	0	10	0	10
8.	0	0	0	10	10
9.	5	5	0	0	10
10.	0	0	5	5	10
Toplam	25	25	25	25	100

Firma: Örneklerin alındığı Kayseri ilinde kesim yapılan mezbahalar

*:Kesimhaneye yapılan her ziyarette alınan örnek sayısı

3.1.2. Sığır kıyma ve parça et örnekleri

Kayseri şehir merkezinde kırmızı et satışı yapan 25 farklı kasap ve süpermarketten (her bir satış yerinden aynı gün 1 adet kıyma ve 1 adet parça et olacak şekilde 2 farklı günde) alınan 100 farklı sığır eti numunesi (50 adet kıyma ve 50 adet parça et) incelendi.

Sığır kıyma ve parça et örnekleri kasap ve süpermarketlerden 200 gr olacak şekilde alındı ve tüm numuneler soğuk zincirde laboratuvara getirilerek aynı gün içerisinde analize tabi tutuldu.

3.2. *Campylobacter* spp. İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Supplement ve Diğer Kimyasallar

Kampilobakterlerin izolasyonu amacı ile ön zenginleştirme besiyeri olarak, Bolton Broth Zenginleştirme Besiyeri (Oxoid CM0983) ve Modified Charcoal Cephoperazone Desoxycholate (mCCDA) kullanıldı.

3.2.1. Bolton Broth Zenginleştirme Besiyeri

İçerik	Miktar(g/l)
Meat Peptone	10.0
Lactalbumin hydrolysate	5.0
Yeast Extract	5.0
Sodium Chloride	5.0
Alpha-ketoglutaric Acid	1.0
Sodium Pyruvate	0.5
Sodium Methabisulphite	0.5
Sodium Carbonate	0.6
Haemin	0.01

Bolton Broth Selective Supplement

İçerik	Miktar(mg/vial)
Cefoperazone	10.0
Vancomycin	10.0
Trimethoprim	10.0
Cycloheximide	25.0

Hazır besiyerinden 13.8 g tartılarak 500 ml distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri $7,4 \pm 0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda iyice eritildi. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilizasyonu sağlandı.

Besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra 50°C 'ye kadar soğutuldu ve sonra üzerine 25 ml Lize At Kanı (Oxoid, SR0048) ve 5 ml etanol ile süspanse edilmiş Bolton Broth Selective Supplement (Oxoid, SR0183) eklendi.

Besiyeri her biri 45 ml olacak şekilde, steril kapaklı tüplere konularak 4°C 'de muhafaza edildi.

3.2.2. Modified Charcoal Cephoperazone Deoxycholate (mCCDA) Besiyeri

Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base besiyeri içeriği

İçerik	Miktar(g/l)
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

mCCDA selektif supplement içeriği (Oxoid, SR155E)

İçerik	Miktar(g/l)
Cephoperazone	16mg/vial
Amphotericine B	5mg/vial

Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (Oxoid CM 739) hazır besiyerinden 22.75 g tartılarak 500 ml distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri $7,4\pm 0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda iyice eritildi. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilizasyonu sağlandı.

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.

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

3.2.3. Kanlı Agar

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

Blood Agar Base No:2 (Oxoid CM0271) hazır besiyerinden 40 g tartılarak 1 lt distile su içerisinde çözündürüldü ve pH değeri $7,4\pm 0,2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika 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.

3.2.4. Katalaz Test Ayıracı

% 30'luk 2 ml hidrojen peroksit (H_2O_2) (Merck 107209), 27 ml distile suda karıştırılarak testte kullanılmak üzere % 3'lük H_2O_2 solüsyonu hazırlandı.

3.2.5. Oksidaz Test Kiti

Hazır Oxydase test kitleri (Oxoid BR 64) kullanıldı.

3.2.6. Mikroaerobik Ortam Kitleri

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

3.3. Multipleks PZR İşleminde Kullanılan Malzemeler

PCR işleminde kullanılan malzemeler aşağıda listelenmiştir.

PCR işleminde Kullanılan Malzeme Listesi

Malzeme	Miktar
Taq DNA polimerase (Thermofisher EPO402)	500 U
PCR Buffer (Applied Biosystems N8080129)	10X
MgCl ₂ (Thermofisher, R0971)	25 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas R0241)	10 Mm

3.3.1. Primer Çiftleri

Campylobacter spp.'nin moleküler yöntemle identifikasyonu amacı ile kullanılan primerler aşağıda verilmiştir (125).

Tablo 3.2. mPZR’de kullanılan primerler, ait olduğu gen bölgeleri ve beklenen bant büyüklükleri

Gen Adı	Primer	Primer dizileri (5’--- 3’)	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>C. jejuni hipO</i>	CJF	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC	323
	CJR	GCCACAACAAGTAAAGAAGC	
<i>C. coli glyA</i>	CCF	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG	126
	CCR	TCCAGCAATGTGTGCAATG	
<i>C. lari glyA</i>	CLF	TAGAGAGATAGCAAAAGAGA	251
	CLR	TACACATAATAATCCCACCC	
<i>C. upsaliensis glyA</i>	CUF	AATTGAAACTCTTGCTATCC	204
	CUR	TCATACATTTTACCCGAGCT	
<i>C. fetus sapB2</i>	CFF	GCAAAATATAAATGTAAGCGGAGAG	435
	CFR	TGCAGCGGCCCCACCTAT	
<i>C. jejuni</i> 23S rRNA	23SR	TATACCGGTAAGGAGTGCTGGAG	650
	23SF	ATCAATTAACCTTCGAGCACCG	

3.3.2. TBE solüsyonu

Tris-Borik Asit-EDTA hazır stok solüsyonu (Thermoscientific B52, ABD) olarak temin edilen 10X (TBE) 1 lt’lik tampon çözelti olarak kullanılmıştır.

3.3.3. Ethidium Bromide

Ethidium Bromid stok solüsyon (Gerbü 1341, GmbH, Almanya) 10 µg/ml olarak temin edilmiş ve 1:9 oranında sulandırılarak 1 µg/ml konsantrasyonda kullanılmıştır.

3.3.4. Agaroz jel

Agaroz jelin (% 1,5’luk) hazırlanması için; 0.75 g agaroz (HyAgarose LE, Vivantis) ve 50ml 0,5xTBE eklenerek mikrodalga fırında eritilmiştir. Yaklaşık 50°C’ye soğutulduktan sonra içerisine 3 µl ethidium bromide eklenmiş ve elektroforez tankına dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

3.3.5. Standart Suslar

Bu çalışmada, *Campylobacter* türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve PCR işlemleri aşamasında *C. jejuni* NCTC 11168, *C. coli* DCC2, *C. upsaliensis* DCC3 ve *C. lari* DCC4 referans suşları kullanılmıştır.

3.3.6. DNA ekstraksiyon kiti

Campylobacter spp. izolatlarından DNA ekstraksiyonu amacı ile ticari DNA ekstraksiyon kiti (Ultraclean DNA extraction kit, mobio 12224-50, ABD) kullanıldı.

3.3.7 Antibakteriyel Duyarlılık Test Diskleri

Çalışmada amoksisilin-klavulanik asit (30µg), enrofloksasin (5µg), eritromisin (15µg), gentamisin (10µg), nalidiksik asit (30µg), streptomisin (10µg) ve tetrasiklin (30µg) antibiyotiklerine ait diskler (Oxoid, İngiltere) kullanıldı.

3.4. YÖNTEM

3.4.1. *Campylobacter* spp.'nin izolasyonu

Sığır karkaslarından *Campylobacter* spp.'nin tespiti amacı ile karkas yıkantı sıvısından 5 ml alınarak 45 ml Bolton broth (Lize at kanı katılmış) içeren tüplere ilave edildi. Kasap ve marketlerden alınan numunelerden 200 gram et örneği stomacher poşetine konularak üzerine 300 ml fizyolojik tuzlu su ilave edildi ve stomacherde homojenisasyonu sağlandı. Bu homojenattan 5 ml alınarak 45 ml Bolton broth (Lize at kanı katılmış) içeren tüplere ilave edildi. Ekim yapılan tüpler homojenize edilerek mikraerobik ortamda 41.5 °C'de 48 saat inkübe edildi. Ön zenginleştirme yapılan bu sıvı kültürden 0,1 ml örnek alınarak mCCDA agarın orta noktasına bırakıldı ve drigalski ile agar yüzeyine yayıldı. Petriler kuruduktan sonra mikraerobik ortamda 37 °C'de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonunda *Campylobacter* spp. şüpheli koloniler makroskobik olarak koloni morfolojisi yönünden değerlendirildi. mCCDA'da gri beyaz renkte metalik röfle veren koloniler seçilerek, saf kültürlerin elde edilmesi amacı ile kanlı agara pasaj yapıldı.

3.4.2. *Campylobacter* spp.'nin identifikasyonu

Kanlı agarda üreyen saf kültürlerle Gram boyama, oksidaz, katalaz testi ve hareket muayenesi yapıldı. Bu testler sonucunda Gram negatif, hareketli, martı kanadı, S yada virgül görünümünde, katalaz ve oksidaz testleri pozitif olan bakteriler *Campylobacter* spp. olarak tanımlandı (126).

3.4.2.1. Gram Boyama ve Mikroskopik Muayene

Kanlı agarda üreyen saf kültürden öze yardımı ile alınarak bir preparat hazırlandı ve kurutulduktan sonra tespit edildi. Daha sonra preparatın üstüne kristal viyoleto solüsyonu konuldu ve 3 dakika boyandı. Preparatın üzerindeki boya döküldükten sonra lugol solüsyonu konularak 2 dakika beklendi. Lugol solüsyonu 2 dakikanın sonunda dökülerek preparat tamamen renksiz akıncaya kadar absolut alkolde dekolere edildi. Daha sonra sudan geçirilen preparat fuksin ile 10 saniye kadar boyandıktan sonra tekrar sudan geçirildi ve kurutuldu. Boyama işlemi biten preparatlar mikroskopta incelendi. Gram negatif, virgül veya spiral şekilli, kıvrık bakteriler *Campylobacter* spp. olarak değerlendirildi (19).

3.4.2.2 Hareket Testi

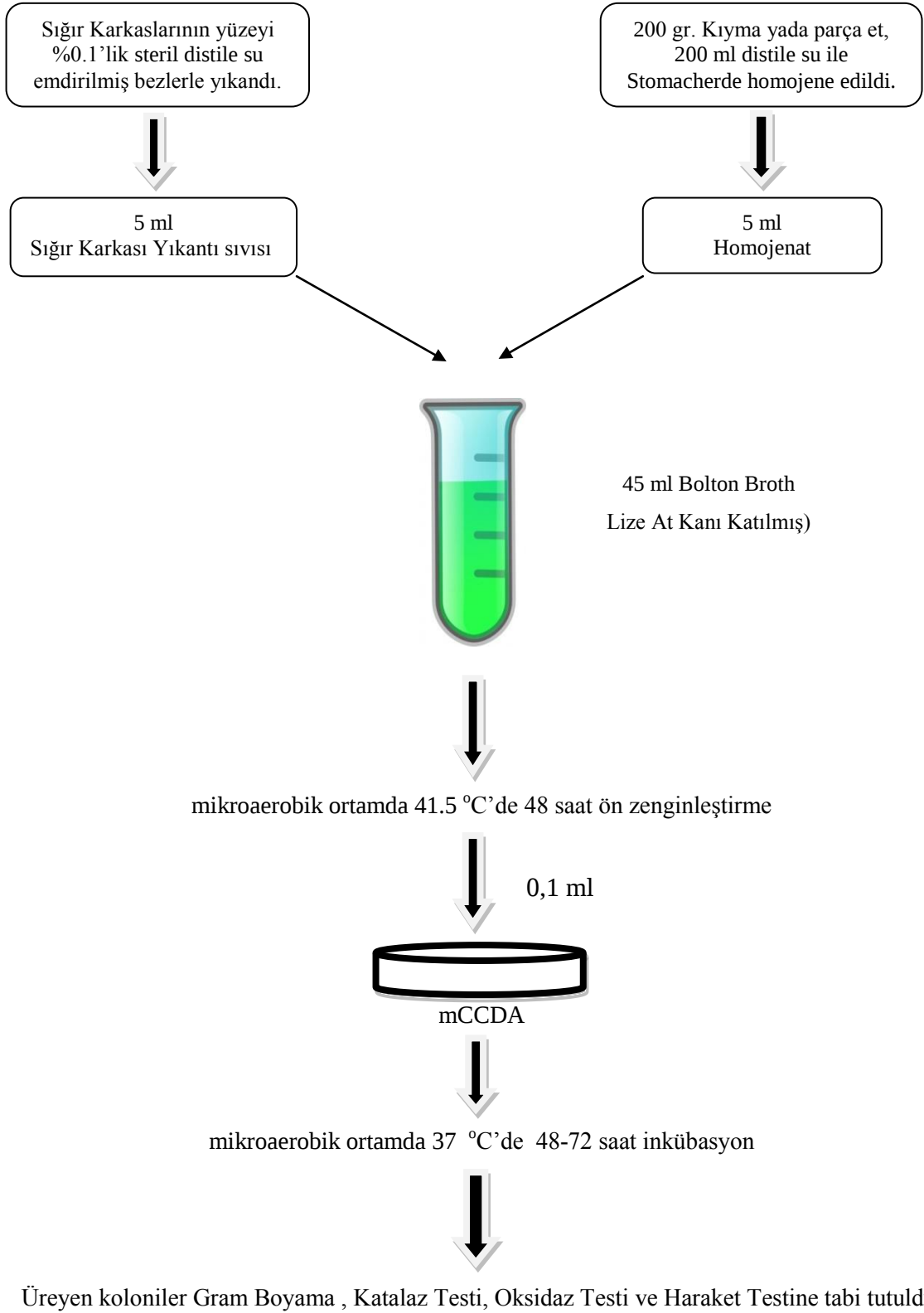
Temiz bir lam üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su damlatıldı. Şüpheli izolattan bir koloni alınarak suda homojenize edildi. Üzerine lamel kapatılarak hazırlanan preparat immersiyon objektifinde incelendi. Virgül, spiral şekilli, kıvrık veya martı kanadına benzeyen ve hareketli olan bakteriler *Campylobacter* spp. olarak değerlendirildi.

3.4.2.3 Oksidaz Testi

Kanlı agarda üreyen kolonilerden öze yardımı ile alındı ve oksidaz test kitine sürüldü. 20 sn beklendikten sonra mavi-mor renk alan koloniler *Campylobacter* spp. pozitif olarak değerlendirildi.

3.4.2.4 Katalaz Testi

Lam üzerinde 1-2 damla % 3 lük H₂O₂ konulduktan sonra kanlı agarda üreyen şüpheli kolonilerden biri öze yardımı ile alınarak lam üzerindeki solüsyon ile karıştırıldı. Gözle görülen gaz kabarcığı oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.



Şekil 3.1 *Campylobacter* spp. izolasyon ve identifikasyonu amacıyla kullanılan protokol

3.4.3. *Campylobacter* spp.'nin mPZR ile identifikasyonu

3.4.3.1 DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu ticari DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.4.3.2 Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR)

Fenotipik testlerle *Campylobacter* spp. olarak tanımlanan izolatların moleküler identifikasyonu Wang ve ark. (125)'nin bildirdikleri mPZR yöntemine göre yapıldı

Reaksiyon karışımı:

Reaksiyon karışımı her bir örnek için; 2.5 µl DNA örneği, 2.5 µl 10x PCR buffer, 20 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP karışımı, 0.5 µM *C.jejuni* ve *C.lari*; 1 µM *C.coli*, 2 µM *C.upsaliensis*, 0.2 µM *C. fetus* ve 0.2 µM *Campylobacter* 23S rRNA primerleri ve 1.25 U Taq polimeraz içerecek şekilde, final konsantrasyonu steril distile su ile 25 µl'ye ayarlanarak hazırlandı. PZR için kullanılan amplifikasyon koşulları aşağıda verilmiştir.

Amplifikasyon koşulları:

95 °C	6 dk		ön denaturasyon
95 °C	30 sn	35 siklus	denaturasyon
59 °C	30 sn		primer bağlanması
72 °C	30 sn		primer uzaması
72°C	7 dk		final uzama

3.4.3.3 Elektroforez ve amplifikasyon ürünlerinin görünümlenmesi

Amplifikasyon sonucunda elde edilen PCR ürünleri etidium bromide ilave edilmiş (3 µl/50 ml) %1.5'lik agaroz jelde 90 V gerilimde 500 amperde 50 dakika elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra, jel dokümantasyon sistemi kullanılarak görünümlendi. Bu test sonunda elde edilen bant büyüklüklerine göre tür tanımları yapıldı (Tablo 3.1.).

3.4.4 Antibakteriyel Duyarlılık Testi

Çalışmada izole edilen *Campylobacter* spp. izolatlarının çeşitli antibakteriyellere (Amoksisilin-klavulanik asit, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, nalidiksik asit, streptomisin ve tetrasiklin) duyarlılıklarının saptanması amacıyla disk difüzyon yönteminden yararlanıldı (127). Her bir *Campylobacter* spp. izolatu, %7 koyun kanı ilave edilmiş Blood agar base No.2'ye ekildi ve ekim yapılan petriler mikraerobik (Anaerocult C, 2.5 lt jar) ortamda 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda üreyen koloniler besiyeri üzerinden toplanarak steril fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edildi ve bakteri yoğunluğu McFarland No.0.5 turbidite standardına ayarlandıktan sonra 1/10 oranında sulandırıldı. Bu sulandırmadan 100 µl %7 koyun kanı ilave edilmiş Blood agar base No.2 besiyerinin yüzeyine svap yardımıyla yayıldı ve test edilecek antibiyotiğe ait diskler belirli aralıklarla agar üzerine yerleştirildi. Petriler mikraerobik ortamda 24-48 saat inkube edildi. İnkübasyon sonrası diskler etrafında oluşan zonlar ölçülerek sonuçlar Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'nın direktifleri doğrultusunda duyarlı, dirençli veya orta derecede duyarlı izolatlar olarak değerlendirildi (128, 129).

4. BULGULAR

4.1. Karkas örneklerinde *Campylobacter* spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları

Çalışma sonucunda incelenen 100 adet sığır karkas örneğinin 28(%28)'i, *Campylobacter* spp. yönünden pozitif olarak saptandı. Bu 28 örneğin, 24'ünden tek tip koloni (mCCD-modified cefoperazone charcoal deoxycholate agarda gri-duman renkli, metalik röfle veren), 4'ünden ise iki farklı koloni (biri gri-duman renkli, metalik röfle veren ve diğeri gri-beyaz renkli, S tipli, mukoid) olmak üzere toplam olarak 32 izolat elde edildi. Moleküler identifikasyonda 4 örnekten elde edilen 8 *Campylobacter* spp. izolatu *C. jejuni* olarak identifiye edildi. Ayrıca 18 nolu örnekten izole edilen 2 farklı *C. jejuni* izolatının antibakteriyel duyarlılık paternlerinin de farklı olduğu gözlenmiştir. Karkas örneklerinden izole edilen toplam 32 adet izolatın moleküler identifikasyonunda 26'sı (%81.25) *C. jejuni*, 3'ü (%9.37) *C. coli* ve 3'ü (%9.37) de *C. lari* olarak tanımlandı (Resim 4.1).

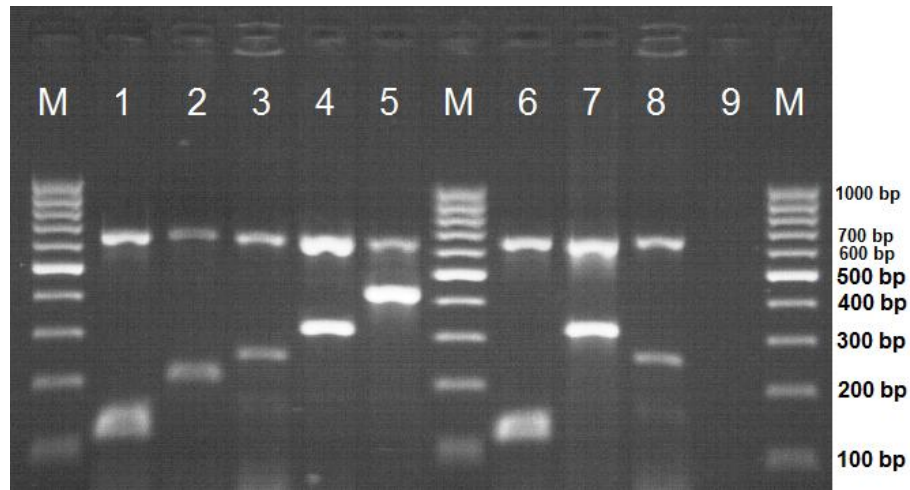
4.2. Et örneklerinde *Campylobacter* spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları

Sığır eti örneklerinde, 100 adet numuneden 8(%8)'i, *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu ve 8 adet izolat elde edildi (Tablo 4.1).

Et örneklerinden elde edilen izolatların moleküler identifikasyonunda 6'sı (%6) *C. jejuni* ve 2'si (%2) de *C. coli* olarak identifiye edildi (Tablo 4.1., Resim 4.1.)

Tablo 4.1 Sığır Karkas ve et örneklerinden *Campylobacter* spp. izolasyon ve identifikasyon sonuçları

Örnek	Örnek Sayısı	<i>Campylobacter</i> spp. Pozitif örnek sayısı (%)	Elde edilen İzolat Sayısı	<i>Campylobacter</i> spp. dağılımı		
				<i>C. jejuni</i> (%)	<i>C. coli</i> (%)	<i>C. lari</i> (%)
Karkas	100	28 (28)	32	26 (81,2)	3 (9,4)	3 (9, 4)
Kırmızı Et	100	8 (8)	8	6 (6)	2 (2)	0
Parça Et	50	5 (10)	5	4 (80)	1 (20)	0
Kıyma	50	3 (6)	3	2 (66.6)	1 (33.3)	0



Resim 4.1. *Campylobacter* türlerine ait mPZR ürünlerinin %1.5 agaroz jel görüntüsü **M:** Marker, 100bp DNA ladder **1:** *C. coli* DCC2 pozitif kontrol (126 bp); **2:** *C. upsaliensis* DCC3 pozitif kontrol (204 bp); **3:** *C. lari* DCC4 pozitif kontrol (251 bp); **4:** *C. jejuni* NCTC 11168 pozitif kontrol (323 bp); **5:** *C. fetus* (saha izolatu) pozitif kontrol, (435 bp); **6-8:** sığır et ve karkas izolatları (6: *C. coli*, 7: *C. jejuni*; 8: *C. lari*); **9:** Negatif kontrol; 650 bp: 23S rRNA (*Campylobacter* spp. için genus pozitif bandlar)

4.3. Sığır karkaslarından izole edilen *Campylobacter* spp.'lerin antibakteriyel duyarlılık test sonuçları

Sığır karkaslarından elde edilen toplam 32 adet *Campylobacter* spp. izolatının disk difüzyon testi sonuçları Tablo 4.2.1 de verilmiştir. Buna göre elde edilen 32 izolattan 3'ü (%9.4) enrofloksasine, 7'si (%21.9) nalidiksik asite, 1'i (%3.1) streptomisine, 4'ü (%12.5) ise tetrasikline dirençli bulunurken, 1'i (%3.1) amoksisilin/klavulonik asite, 4'ü

(%12.5) enrofloksasine, 5'i (%15,6) eritromisine, 1'i (%3.1) gentamisine ve 2'si (%6.2) nalidiksik asite orta derecede duyarlı saptandı.

Tablo 4.2. Sığır karkaslarından ayrılan *Campylobacter* spp.'lerin antibakteriyel duyarlılıkları

	Sığır karkaslarından elde edilen <i>Campylobacter</i> spp. izolatları (n=32)		
	S(%)	I (%)	R (%)
Amoksisilin/Klavulonik asit	31(%96.9)	1 (%3.1)	0
Enrofloksasin	25(%78.1)	4 (%12.5)	3(%9.4)
Eritromisin	27(%84.4)	5 (%15,6)	0
Gentamisin	31(%96.9)	1 (%3.1)	0
Nalidiksik Asit	23 (%71.9)	2 (%6.2)	7(%21.9)
Streptomisin	31 (%96.9)	0	1 (%3.1)
Tetrasiklin	28(%87.5)	0	4(%12.5)

S: Duyarlı, R: Dirençli, I: Orta Derecede Duyarlı

Sığır karkaslarından izole edilen 32 adet izolatın tür bazında antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 4.2.2 de verilmiştir. Buna göre 26 adet *C. jejuni* izolatının 2'si (% 7.7) enrofloksasine, 6'sı (% 23.1) nalidiksik asite, 4'ü (%15.4) tetrasikline dirençli iken, 1'i (% 3.8) enrofloksasine, 3'ü (% 11.5) eritromisine orta derecede duyarlı olarak belirlendi.

Sığır karkaslarından izole edilen 3 adet *C. coli* izolatından 1'i (% 33.3) enrofloksasine ve 1'i (%33.3) ise streptomisine dirençli iken, 1'i (% 33.3) amoksisilin/klavulonik asit, 1'i (% 33.3) eritromisine, 1'i (% 33.3) gentamisine ve 2'sinin (%66.7) nalidiksik asite orta derecede duyarlı olduğu tespit edildi.

Sığır karkaslarından izole edilen 3 adet *C. lari* izolatından 1'i (% 33.3) nalidiksik asite dirençli iken, 3'ü (%100) enrofloksasine ve 1'inin (% 33.3) eritromisine orta derecede duyarlı olduğu tespit edildi.

Tablo 4.3. Sığır Karkaslarından elde edilen izolatların tür bazında antibiyotik duyarlılık sonuçları

	<i>C.jejuni</i> (n=26)			<i>C.coli</i> (n=3)			<i>C.lari</i> (n=3)		
	S(%)	I (%)	R (%)	S(%)	I (%)	R (%)	S(%)	I (%)	R (%)
AMC	26 (100)	0	0	2(66.7)	1(33.3)	0	3(100)	0	0
ENR	23 (88.5)	1(3,8)	2(7.7)	2(66.7)	0	1(33.3)	0	3(100)	0
E	23 (88.5)	3(11.5)	0	2(66.7)	1(33.3)	0	2(66.7)	1(33.3)	0
CN	26 (100)	0	0	2(66.7)	1(33.3)	0	3(100)	0	0
NA	20 (76.9)	0	6(23.1)	1(33.3)	2(66.7)	0	2(66.7)	0	1(33.3)
S	26 (100)	0	0	2(66.7)	0	1(33.3)	3(100)	0	0
TE	22 (81.8)	0	4(15.4)	3(100)	0	0	3(100)	0	0

S: Duyarlı, R: Dirençli I: Orta Derecede Duyarlı

AMC: amoksisilin/klavulonik asit ENR: enrofloksasin E:eritromisin CN: gentamisin NA: nalidiksik asit
S: streptomisin TE: tetrasiklin

4.4. Sığır etlerinden izole edilen *Campylobacter* spp.'lerin antibakteriyel duyarlılık test sonuçları

Sığır etlerinden elde edilen toplam 8 adet *Campylobacter* spp. izolatının disk difüzyon testi sonuçları Tablo 4.3 de verilmiştir. Buna göre izolatların 4'ü (%50 si) enrofloksasine, 1'i (%12.5) eritromisine, 2'si (%25) gentamisine, 5'i (%62.5) ise nalidiksik asite dirençli saptanırken, 1'i (%12.5) amoksisilin/klavulonik asite, 2'si (%50) enrofloksasine, 1'i ise eritromisine orta derecede duyarlı olduğu belirlendi.

Sığır etlerinden izole edilen 8 adet izolat tür bazında incelendiğinde ise elde edilen 6 *C. jejuni*'nin 4'ü (%66.6) enrofloksasine, 1'i (%16.7) eritromisine, 5'i(%83.3) ise nalidiksik asite dirençli bulunurken, 1'i (%16.7) amoksisilin/klavulonik asite ve 1'i de (%16.7) enrofloksasine orta derecede duyarlı oldukları saptandı. Elde edilen 2 adet *C. coli* izolatında ise herhangi bir direnç gelişimi gözlenmezken 1'i (%50) enrofloksasine, 1'inin ise eritromisine orta derecede duyarlı olduğu tespit edildi.

Tablo 4.4. Sığır Etlerinden izole edilen *Campylobacter* spp.'lerin antibakteriyel duyarlılıkları

	<i>Campylobacter</i> spp.(n=8)			<i>C. jejuni</i> (n=6)			<i>C.coli</i> (n=2)		
	S(%)	I (%)	R (%)	S(%)	I (%)	R (%)	S(%)	I (%)	R (%)
AMC	7(87.5)	1(12.5)	0	5(83.3)	1(16.7)	0	2(100)	0	0
ENR	2(25)	2(25)	4(50)	1(16.7)	1(16.7)	4(66.6)	1(50)	1(50)	0
E	6(75)	1(12.5)	1(12.5)	5(83.3)	0	1(16.7)	1(50)	1(50)	0
CN	8(100)	0	2(25)	6(100)	0	0	2(100)	0	0
NA	3(37.5)	0	5(62.5)	1(16.7)	0	5(83.3)	2(100)	0	0
S	8(100)	0	0	6(100)	0	0	2(100)	0	0
TE	8(100)	0	0	6(100)	0	0	2(100)	0	0

S: Duyarlı, R: Dirençli I: Orta Derecede Duyarlı

AMC: amoksisilin/klavulonik asit ENR: enrofloksasin E:eritromisin CN: gentamisin NA: nalidiksik asit

S: streptomisin TE: tetrasiklin

[illegible]

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Dünyada insanlarda gözlenen gıda kaynaklı gastroenteritis vakalarının en önemli sebebi olarak gösterilen kampilobakterler hakkında bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır (99-112). Yapılan literatür incelemesinde kampilobakterler ile ilgili çalışmaların çoğunluğunun enfeksiyonun epidemiyolojisinde birincil bulaşma kaynağı olarak gösterilen kanatlılar üzerinde yürütüldüğü (126, 130, 131) gözlenmiştir. Bununla birlikte bu mikroorganizmaların kırmızı et ve et ürünlerinde varlığının araştırılmasına ilişkin yürütülmüş çalışmalar (99-103) da bulunmaktadır. Ancak bunların sayısı kanatlılarda yürütülen çalışmalarla kıyaslanınca göreceli olarak daha sınırlıdır.

Kırmızı et ve et ürünlerinin *Campylobacter* spp. ile kontaminasyon düzeylerinin belirlenmesine yönelik gerek yurdumuzda Bostan ve ark. (132) ve gerekse diğer ülkelerde Madden ve ark. (133), Wong ve ark. (106), Little ve ark. (99) tarafından çok değerli araştırmalar yürütülmüştür. Mevcut bilgilerimize göre bu araştırmalarda *Campylobacter* spp. izolasyon oranlarının %0 ile %23 arasında değiştiğı görülmektedir. Nitekim yurdumuzda Bostan ve ark. (132) 198 adet sığır karkasının %11.1'ini *Campylobacter* spp. ile kontamine bulmuşlardır. Sığır eti örneklerinde *Campylobacter* spp. kontaminasyon oranını, Turgay ve Bozdoğan (134) % 5.8, Aksu ve ark. (135) % 8 ve Elmalı (136) % 4 olarak rapor etmişlerdir.

Madden ve ark. 1998 ve 2001 yılında 100'er adet sığır karkasında *Campylobacter* spp. varlığını saptamaya yönelik yapmış oldukları iki ayrı çalışmada karkaslarda herhangi bir *Campylobacter* spp. kontaminasyonunun olmadığını bildirmişlerdir (133,137). Yine, Ono ve Yamamoto (138) 364 adet sığır eti örneğinde, *Campylobacter* spp.yönünden herhangi bir kontaminasyona rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Zhao ve ark. (139) 185 adet sığır etinin 1 (%0.54)'ini *Campylobacter* spp. yönünden pozitif saptamışlardır. Hong ve ark. (100) 2001-2006 yılları arasında inceledikleri toplam 250 örnekten 3 (%1.2)'ünün *C. jejuni* ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. Pezotti ve ark.(140) yılında yayınladıkları çalışmada 151 sığır eti örneğinin 2 (% 1.32)'sinden *Campylobacter* spp izole ettiklerini ve her iki izolatın da *C. jejuni* olduğunu bildirmişlerdir. Bolton ve ark. (141) 135 adet kıymayı incelemiş ve 3(%2.2) kıyma örneğinde *Campylobacter* spp.'nin pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Whyte ve ark. (142) 2001-2002 yılları arasında inceledikleri toplam 221 adet sığır eti örneğinin 7(%3.16)'sinde *Campylobacter* spp. tespit etmişler bunların 6'sının *C. jejuni*, 1'inin ise *C. coli* olduğunu bildirmişlerdir. Little ve ark. (99) 1514 sığır eti örneğinin 71(%4.7)'inde *Campylobacter* spp. kontaminasyonu tespit etmişlerdir.

Korsak ve ark. (143) 420 adet sığır karkas örneğinin %10'undan *Campylobacter* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Sammarco ve ark. (144) 142 adet sığır etinin 15 (%10.6)'ini *Campylobacter* spp. yönünden pozitif saptamışlar ve bu izolatların 13' ünü *C. jejuni*, 2' sini de *C. coli* olarak tanımlamışlardır. Kashoma ve ark. (145) sığır karkaslarının %13.4'ünü *Campylobacter* spp. yönünden pozitif saptamışlardır. Lammerding ve ark (146). Kanada da 135 sığır karkasından % 14.7 oranında termofilik *Campylobacter* spp. izole etmişlerdir.

Vipham ve ark. (147) tarafından yapılan bir çalışmada parça ette %17.24 oranında, kıymada ise %7.35 oranında *Campylobacter* spp. tespit edilmiştir. Cloak ve ark. (148) 20 adet sığır kıymasının 5 (%20)'inde *Campylobacter* spp. ettiklerini bildirmişlerdir. Modirrousta ve ark. (149) yılında yapmış oldukları çalışmada 90 adet sığır etinin 21 (23.33)'inin *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğunu ve bunların 13'ünün *C. jejuni*, 6'sının *C.coli* ve 2'sinin de *C. lari* olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda analiz edilen 100 adet sığır karkas örneğinin 28(%28)'i, 100 adet sığır eti örneğinin de 8 (%8)'i, *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu bulundu.

Karkas örneklerinden izole edilen toplam 32 adet izolatın (4 örnekten 2'ser izolat elde edildi. Tablo 4.5.) 26'sı (%81.25) *C. jejuni*, 3'ü (%9.37) *C. coli* ve 3'ü (%9.37) de *C.*

lari olarak tanımlandı. Et örneklerinden elde edilen izolatların 6'sı (%6) *C. jejuni* ve 2'si (%2) de *C. coli* olarak identifiye edildi. Çalışmamızda karkaslardan elde ettiğimiz *Campylobacter* spp. kontaminasyon oranının yukarıdaki gerek yurdumuzda gerekse diğer ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçlarından yüksek olduğu görülmektedir. Bu yüksek oranın, kullanılan kültürel yoklamaya, örnek sayısına ve kesim sonrası örneğin alınma zamanına ve kesim esnasında bağırsak içeriğinin karkasla bulaşmasında önemli bir faktör olarak göz önünde bulundurulması gereken kesim tekniğine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Kesim sonrası karkasların soğutma ve dondurma işlemi, kampilobakterilerin canlılıkları üzerine önemli derecede etki eden faktörler olup bu işlemlere maruz kalmış örneklerden kampilobakterlerin izolasyon oranlarının oldukça düştüğü bildirilmiştir (117, 32, 150).

Keza çalışmamızda karkaslardan alınan örnekler kesim işlemi bittikten hemen sonra dinlenme evresinin başında (soğutma işleminden önceki evre) alınmıştır. Bu nedenle izolasyon oranının yüksek olmasının, karkas ısısının hala yüksek olduğu bir dönemde örneklerin alınmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kesimhanedeki genel hijyen kalitesinin düşük olması da bu duruma etkilidir.

Yine çalışmamızda sığır parça et ve kıyma örneklerinde *Campylobacter* spp. izolasyon oranı yukarıdaki araştırmacıların sonuçlarından daha düşük (99, 100, 133, 134, 136-142), bazılarında ise daha yüksek (144,147-149) olduğu görülmektedir. Bu durum, örnek sayısı, kullanılan izolasyon tekniği, et ve kıymanın muhafaza edildiği ortam, çalışanların hijyen kurallarına uymaları, kıyma makinelerinde çapraz bulaşmanın olması ile açıklanabilir.

Kampilobakter Genusunun gerek farklı türleri (151) gerekse bir türün farklı alt tipleri (152, 153), hayvansal gıda örneklerinden (154, 155), hayvanlardan (156, 157), hayvan enfeksiyonlarından (156, 157) ve insan enfeksiyonlarından (151, 158) izole edilebilmektedir. Nitekim Kramer ve ark. (154), sığır, koyun ve domuz karaciğer ve tavuk etlerini *C. jejuni* ve *C. coli* yönünden analiz etmişler ve analiz edilen 489 örneğin %73.2'sini *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulmuşlardır. Araştırmacılar izole edilen *Campylobacter* suşlarının yaklaşık %30'unun farklı alt tipler olduğunu ve analiz edilen her örnekten birden fazla izolatın seçilmesinin ve test edilmesinin epidemiyolojik yönden önemli olduğunu vurgulamışlardır. Yine Wong ve ark. (106) inceledikleri 230 adet sığır karkasının 8(%3.5)'ini *Campylobacter* spp. yönünden pozitif saptamışlar ve

örneklerin 7(%3)'sinden *C. jejuni*, 1(%0.4)'inden hem *C. jejuni*, hem de *C. coli* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada incelenen 100 adet sığır karkas örneğinin 28(%28)'i, *Campylobacter* spp. yönünden pozitif olarak saptandı. Bu 28 örneğin, 24'ünden tek tip koloni (mCCD-modified cefoperazone charcoal deoxycholate agarda gri-duman renkli, metalik röfle veren), 4'ünden ise iki farklı koloni (biri gri-duman renkli, metalik röfle veren ve diğeri gri-beyaz renkli, S tipli, mukoid) olmak üzere toplam olarak 32 izolat elde edildi. Moleküler identifikasyonda 4 örnekten elde edilen 8 *Campylobacter* spp. izolatu *C. jejuni* olarak identifiye edildi. Ayrıca 18 nolu örnekten izole edilen 2 farklı *C. jejuni* izolatının antibakteriyel duyarlılık paternlerinin de farklı olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.5). Bu yüzden farklı kaynaklardan *Kampylobacter* izolasyon çalışmalarında, bir örnekten üreyen farklı koloni tiplerinin tümünün değerlendirmeye alınıp identifikasyonlarının yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Gerek yukarıdaki araştırmacıların bulguları ve gerekse çalışmamızda elde ettiğimiz 4 örnekten 2 farklı koloninin izole edilmiş olması, bu durumun önemini ortaya koymaktadır.

Sammarco ve ark. (144) 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada 142 adet sığır etinden yapmış oldukları çalışmada 15 (%10.6) adet izolat elde etmiş bu izolatların 13(%86.7)'ünü *C. jejuni*, 2(%13.3)'sini *C. coli* olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, elde ettikleri izolatlara yapmış oldukları antimikrobiyal duyarlılık testleri sonucunda 13 *C. jejuni* izolatının 6(%46.2)'sı nalidiksik asite, 1(%7.7)'i ampisiline, 9(%69.2)'u sefalotine, 1(%7.7)'i sefotaksime, 5 (%38.5)'i siprofloksasine, 1(%7.7)'i kloramfenikole, 6(%46.2)'sı enrofloksasine, 1 (%7.7)'i gentamisine, 2(%15.4)'i sülfanamidaza, 8(%61.5)'i trimetoprim-sulfametoksazole dirençli olarak saptamışlardır. *C. coli* izolatından ise her 2 (%100)'si de sefalotin ve sulfanamide direnç gösterirken, 1(%50) izolat ise ampisilin ve sulfanamidaza dirençli olarak tespit edilmişlerdir.

Little ve ark. (99) yapmış oldukları çalışmada inceledikleri kırmızı et örneklerinden 43 adet *C. jejuni*, 6 adet *C. coli* izole etmiş, bu izolatlara uyguladıkları antibiyotik duyarlılık test sonucunda ise *C. jejuni* izolatlarının %44.2'si ampisilin, %2.3'ü kloramfenikol, %48.8'i tetrasiklin, %2.3'ü furazolidone, %2.3'ü gentamisin, %13.9'ü nalidiksik asit, %11.6'sı siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Elde edilen *C. coli* izolatlarının ise %66.7'si ampisiline, %33.3'ü tetrasikline, %16.7'si nalidiksik asite, %16.7'si siprofloksasine, %16.7'si eritromisine dirençli olarak saptadıkları bildirilmiştir.

Kırmızı et ürünlerinde tespit edilen *Campylobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarına ilişkin yapılan çalışmaların sınırlı olması ve araştırmacıların elde ettikleri antibakteriyel duyarlılık sonuçlarını izolatların orjini bazında (sığır, koyun, keçi, domuz vb.) sınıflandırmadan genel sonuçlar olarak belirtmesi (100, 159, 160) verilerin daha detaylı karşılaştırılmasını engellemektedir.

Genellikle kampilobakterlere karşı son yıllarda artan bir antibiyotik direnci, özellikle de florokinolonlara karşı, söz konusudur. Bu direncin özellikle kanatlı ve insan orjinli *C. jejuni* izolatlarında oldukça yaygın olduğu (130, 158, 161) bildirilmektedir.

Bu antibiyotik direncinin genel olarak insan ve kanatlılarda antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Ancak sığır yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımının daha sınırlı olduğu göz önünde bulundurulduğunda izolatların antibiyotiklere daha duyarlı oldukları değerlendirilmektedir.

Yukarıdaki çalışmalarda et ve karkas örneklerinden elde edilen *Campylobacter* spp. içinde dominant türün *C. jejuni*, ikinci sırada ise *C. coli* olduğu görülmektedir. Bununla birlikte *C. hyointestinalis*'in de karkaslardan izole edildiği bildirilmektedir (117).

Modirrousta ve ark. (149) sığırlardan izole edilen dominant türün *C. jejuni*, 2. sırada *C. coli*, 3. sırada ise *C. lari* olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da incelenen tüm örneklerde izole edilen dominant tür *C. jejuni*, 2. sırada *C. coli*, 3. sırada ise *C. lari* yer almıştır. Elde ettiğimiz *Campylobacter* tür izolasyon oranları yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olmakla birlikte *C. lari* izolasyonu karkas örneklerinden yapılmamıştır. *Campylobacter lari*'nin genellikle kanatlıların ve kedi, köpek gibi hayvanların sindirim sistemleri floralarında bulundukları düşünüldüğünde karkaslardan *C. lari* izole edilmesi, kesimhane hijyeninin zayıf olması ve özellikle de karkasların, anılan hayvanların dışkıları ile temas ettiğini düşündürmektedir. Modirrousta ve ark. (149)'nın *C. lari* izole etmiş olduğu çalışmada her ne kadar *C. lari*'nin tanımlanması fenotipik testler ile yapılmış olsa da bizim çalışmamızda türlerin identifikasyonu, moleküler identifikasyon teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak, analiz edilen sığır karkaslarının ve etlerinin çeşitli termofilik kampilobakter türleri ile kontamine olduğunun saptanmış olması, *Campylobacter* enfeksiyonları açısından etkeni içeren bu etlerin tüketiminin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışmada *C. lari*'nin de izole edilmesi, farklı kontaminasyon kaynaklarından dolayı mezbaha hijyen kalitesinin arttırılması zorunluluğunu ortaya koymaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. <http://www.tarim.gov.tr/HAYGEM/Belgeler/Hayvanc%C4%B1l%C4%B1k/K%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1%20Et%20Stratejisi.pdf>. (Erişim Tarihi: 12.12.2016)
2. Schlundt J, Toyofuku H, Jansen J, Herbst SA. Emerging food-borne zoonoses. Rev Sci Tech 2004; 23(2): 513-33.
3. Nouichi S, Hamdi TM. Superficial Bacterial Contamination of Ovine and Bovine Carcasses at El-Harrach Slaughterhouse (Algeria). European Journal of Scientific Research 2009; 38(3): 474-485.
4. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne illness acquired in the United States Major pathogens. Emerg Inf Dis 2011; 17(1): 7-15.
5. Brandl MT, Haxo AF, Bates AH, Mandrell RE. Comparison of survival of *Campylobacter jejuni* in the phyllosphere with that in the rhizosphere of spinach and radish plants. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 1182-1189.
6. Vandamme P. "Taxonomy of the family Campylobacteraceae," in *Campylobacter*, eds Namchamkin I, Blaser MJ, editors. (Washington, DC: ASM) 2000; 3-27.
7. King S, Adams MC. Incidence of *Campylobacter* in processed poultry: is it a concern for human health. J Food Saf 2008; 28(3): 376-388.
8. Vandamme P, Debruyne L, De Brandt E, Falsen E. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60(3): 2016-2022.

9. Skirrow MB. John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* species. Clin Infect Dis 2006; 43(9): 1213-1217.
10. Zilbauer M, Dorrell N, Wren BW, Bajaj-Elliott M. *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. Trans R Soc Trop Med Hyg 2008; 102(2): 123-9.
11. Smith T, Taylor MS. Some morphological and biological characters of the spirilla (vibrio fetus) associated with disease of the fetal membranes in cattle. J Exp Med 1919; 30(4): 299-311.
12. On SLW. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. J Appl Microbiol 2001; 90: 1S-15S.
13. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. Clin Microbiol Rev July 2015; 28(3): 687-720.
14. Skirrow MB. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. J Comp Path 1994; 111: 113-149.
15. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?src=0&id=443> (Erişim Tarihi: 12.12.2016).
16. Galate L, Bangde S. *Campylobacter* A Foodborne Pathogen. Int J of Sci Res 2015; 4(3): 1250-1259.
17. Debruyne L, Gevers D, Vandamme P. "Taxonomy of the family Campylobacteraceae" in *Campylobacter*, 3rdEd. I Nachamkinand M.J.Blaser, ASM Press, Washington DC 2008; 3-27.
18. Portner DC, Leuschner RGK, Murray BS. Optimising the viability during storage of freeze-dried cell preparations of *Campylobacter jejuni*. Cryobiology 2007; 54(3): 265-70.
19. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, et al. Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi:26, Dördüncü Baskı 1999.
20. Skirrow MB, Benjamin J. '1001' Campylobacters: cultural characteristics of intestinal campylobacters from man and animals. J Hyg (Lond) 1980; 85: 427-442.
21. Kelly AF, Park SF, Bovill R, Mackey BM. Survival of *Campylobacter jejuni* during stationary phase: evidence for the absence of a phenotypic stationary-phase response. Appl Environ Microbiol 2001; 67(5): 2248-54.

22. Uematsu H, Nunez P, Sato N, Nakazawa F, Hoshino E. *Campylobacter rectus* and *Campylobacter gracilis* Isolated from Human Periodontal Pockets. *Journal of Oral Biosciences* 2011; 53(4): 356-365.
23. Wassenaar TM, Newell DG. Minireview, Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66(1): 1-9.
24. Stern NJ, Patton CM, Doyle MP, Park CE, Mccardell BA. *Campylobacter* In Compendium of methods for the microbiological examination of food. Vanderzant DF, Spiltstoesser DF (Ed), Washington DC 1992: 475-479.
25. Epps, SVR, Harvey RB, Hume ME, et al. Foodborne *Campylobacter*: Infections, Metabolism, Pathogenesis and Reservoirs. *Int J Environ Res Public Health* 2013; 10(12): 6292-6304.
26. Steinbrueckner B, Haerter G, Pelz K, Kist M. Routine identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human stool samples. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 179(2): 227-32.
27. Silva J, Leite D, Fernandes M, et al. *Campylobacter* spp. as A Foodborne Pathogen: A Review. *Front Microbiol* 2011; 2: 200.
28. Corry JEL, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of campylobacters. *Int J Food Microbiol* 1995; 26: 43-76.
29. Leuchtefeld NW, Reller LB, Blaser MJ, Wang WLL. Comparison of atmospheres of incubation for primary isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from animal specimens: 5% oxygen versus candle jar. *J Clin Microbiol* 1982; 15(1): 53-57.
30. Konkel ME, Kim BJ, Klena JD, Young CR, Ziprin R. Characterisation of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 1998; 66(8): 3666-3672.
31. Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni*-An Emerging Foodborne Pathogen. *Emerg Infect Dis* 1999; 5(1): 28-35.
32. Bostan K, Aksu H, Özgen Ö, Uğur M. Effects of refrigerated and frozen storage on the survival of *Campylobacter jejuni* in Ground and Cubed Beef. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2001; 4(7): 888-890.

33. Balamurugan S, Nattress FM, Baker LP, Dilts BD. Survival of *Campylobacter jejuni* on beef and pork under vacuum packaged and retail storage conditions: examination of the role of natural meat microflora on *C.jejuni* survival 2011; 28(5): 1003-10.
34. Dykes GA, Moorhead SM. Survival of *Campylobacter jejuni* on vacuum or carbon dioxide packaged primal beef cuts stored at 1.5°C. Food Control 2001; 12(8): 553-557.
35. Stern NJ, Kazmi SU. *Campylobacter jejuni* In: Foodborne Bacterial Pathogens. Eds: Doyle, M. P. Markel Dekker, Inc. Wisconsin 1989: 71-110.
36. Anon. *Campylobacter* In: Microorganisms In Foods. Characteristics of Microbial Pathogens. James and James Ltd., U.K. London 1996: 45-65.
37. Stern NJ, Patton MC, Doyle MP, Park CE, McCardel BA. *Campylobacter*(3rd ed). In: Vanderzant C. and Spiltstoesser F. (eds). Compendium For Microbiologic Examination of Foods. APHA, NW Washington DC 475-495.
38. Beuchat LR. "Methods for detecting and enumerating *C. jejuni* and *C. coli* in poultry. Poult Sci 1986; 65(12): 2192-8.
39. Kaakoush NO, Miller WG, Reuse HD, Mendz GL. Oxygen requirement and tolerance of *Campylobacter jejuni*. Res Microbiol 2007; 158(8-9): 644-50.
40. Moore JE, Corcoran D, Dooley JSG, et al. *Campylobacter*. Vet Res 2005; 36(3): 351-82.
41. Butler RC, Lund V, Carlson DA. Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* to UV radiation. Appl Environ Microbiol 1987; 53(2): 375-378.
42. Noppont B, Brooks JD, Manderson GJ. Effects of chemical Inhibitors on *Campylobacter jejuni* and *E. coli* by Agar well Diffusion Technique. KKU Vet J 1997; 7(2).
43. Ray B, Bhunia A. Fundamental Food Microbiology. 4th ed. Taylor & Francis Group Florida 2008: 83-93.
44. Solomon EB, Hoover DG. *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. J Food Safety 1999; 19(2): 121-136.
45. Parkhill J, Wren B, Mungall K, et al. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. Nature 2000; 403(6770): 665-8.

46. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. J Appl Microbiol 2006; 100(4): 623-32.
47. Rollins DM, Colwell RR. Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. Appl Environ Microbiol 1986 ; 52(3): 531-538.
48. Oliver JD. The viable but nonculturable state in bacteria. J Microbiol 2005; 43: 93-100.
49. Chaisowwong W, Kusumoto A, Hashimoto M, et al. Physiological characterization of *Campylobacter jejuni* under cold stresses conditions: Its potential for public threat. J Vet Med Sci 2012; 74(1): 43-50.
50. Moran AP, Upton ME. Factors affecting production of coccoid forms by *Campylobacter jejuni* on solid media during incubation. J Appl Bacteriol 1987; 62(6): 527-537.
51. Ng LK, Sherburne R, Taylor DE, Stiles ME. Morphological forms and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. J Bacteriol 1985; 164(1): 338-43.
52. Nannapaneni R, Story R, Johnson MG. Virulence and cytotoxicity of spiral and coccoid cells of *Campylobacter jejuni*. Amer Soc Microbiol Gen Mtg Orlando, FL 2001; 20-24.
53. Arber W. Genetic variation: Molecular mechanisms and impact on microbial evolution. FEMS Microbiol Rev 2000; 24(1): 1-7.
54. Gunther NW, Chen CY. The biofilm forming potential of bacterial species in genus *Campylobacter*. Food Microbiol 2009; 26(1): 44-51.
55. Reuter M, Mallett A, Pearson BM, Vliet AHMV. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. Appl Environ Microbiol 2010; 76(7): 2122-2128.
56. Haddock G, Mullin M, Maccallum A, et al. *Campylobacter jejuni* 81-176 forms distinct microcolonies on in vitro infected human small intestinal tissue prior to biofilm formation. Microbiology 2010; 156(10): 3079-84.
57. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Induction of an adaptive tolerance response in the foodborne pathogen, *Campylobacter jejuni*. FEMS Microbiology Letters 2003; 223: 89-93.

58. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Identification of a novel stress resistance mechanism in *Campylobacter jejuni*. J Appl Microbiol 2003; 95(4): 704-708.
59. Chan KF, Tran HL, Kanenaka RY, Kathariou S. Survival of clinical and poultry-derived isolates of *Campylobacter jejuni* at a low temperature (4 °C). Appl Environ Microbiol 2001; 67(9): 4186-4191.
60. Park SF. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. Int J Microbiol 2002; 74(3): 177-188.
61. Stinzi A, Whitworth L. Investigation of the *Campylobacter jejuni* coldshock response by global transcript profiling. Genome Lett 2003; 2(1-2): 18-27.
62. Moen B, Oust A, Langsrud Ø, et al. Explorative multifactor approach from investigating global survival mechanisms of *Campylobacter jejuni* under environmental conditions. Appl Environ Microbiol 2005; 71(4): 2086-2094.
63. Humphrey TJ. *Campylobacter jejuni*: some aspects of epidemiology, detection and control. Br Food J 1992; 94(1): 21-25.
64. Apel D, Ellermeier J, Pryjma M, DiRita VJ, Gaynora EC. Characterization of *Campylobacter jejuni* RacRS reveals roles in the heat shock response, motility, and maintenance of cell length homogeneity. J Bacteriol 2012; 194(9): 2342-54.
65. Vercellone PA, Smibert RM, Kreig NR. Cat-alase activity in *Campylobacter jejuni*: comparison of a wild-type strain with an aerotolerant variant. Can J Microbiol 1990 Jun; 36(6): 449-51.
66. Jones DM, Sutcliffe EM, Rios R, Fox AJ, Curry A. *Campylobacter jejuni* adapts to aerobic metabolism in the environment. J Med Microbiol 1993; 38(2): 145-50.
67. Varsaki A, Murphy C, Barczynska A, Jordan K, Carroll C. The acid adaptive tolerance response in *Campylobacter jejuni* induces a global response, as suggested by proteomics and microarrays. Microb Biotechnol 2015; 8(6): 974-988.
68. Minamino T, Imada K, Namba K. Molecular motors of the bacterial flagella. Curr Opin Struct Biol 2008; 18(6): 693-701.
69. Hughdahl MB, John TB, Michael PD. Chemotactic behavior of *Campylobacter jejuni*. Infect Immun 1988; 56(6): 1560-66.
70. Ferrero RL, Lee A. Motility Of *Campylobacter jejuni* In A Viscous Environment, Comparison With Conventional Rod Shaped Bacteria. J Gen Microbiol 1988; 134(1): 53-9.

71. Walker RI, Caldwell MB, Lee EC, et al. Pathphysiology Of *Campylobacter enteritis*. Microbiol Rev 1986; 50(1): 81-94.
72. McSweegan E, Walker RI. Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. Infect Immun 1986; 53(1): 141-148.
73. Russell RG, Odonoghue M, Blake DC Jr, Zulty J, De Tolla LJ. Early Colonic Damage and Invasion of *Campylobacter jejuni* in Experimentally Challenged Infant *Macaca mulatta*. J Infect Dis 1993; 168(1): 210-5.
74. Wassenaar TM, Blaser MJ. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* Infections of Humans. Microbes Infect 1999; 1(12): 1023-33.
75. Wassenaar TM. Toxin production by *Campylobacter* spp. Clinical Microbiology Reviews 1997; 10(3): 466-476.
76. Ketley MJ, Konkel ME. *Campylobacter* Molecular and Cellular Biology. 1th ed Norfolk: Horizon Bioscience 2005.
77. Guerry P, Ewing CP, Hickey TE, Prendergast MM, Moran AP. Sialylation of lipooligosaccharide core affects immunogenicity and serum resistance of *Campylobacter jejuni*. Infect Immun 2000; 68(12): 6656-6662.
78. Bolton DJ. Review: *Campylobacter* virulence and survival factors. Food Microbiology 2015; 48: 99-108.
79. Karlyshev AV, Linton D, Gregson NA, Lastovica AJ, Wren BW. Genetic and biochemical evidence of a *Campylobacter jejuni* capsular polysaccharide that accounts for Penner serotype specificity. Mol Microbiol 2000; 35(3): 529-41.
80. Palyada K, Threadgill D, Stintzi A. Iron Acquisition And Regulation In *Campylobacter Jejuni*. J Bacteriol 2004; 186(14): 4714-4729.
81. Field LH, Headley VL, Payne SM, Berry 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.
82. Richardson PT, Park SF. Enterochelin Acquisition In *Campylobacter coli* Characterization Of Components Of A Binding Protein Dependent Transport System. Microbiology 1995; 141(Pt 12): 3181-91.

83. Isenbarger DW, Hoge CW, Srijan A, et al. Comparative antibiotic resistance of diarrheal pathogens from Vietnam and Thailand, 1996-1999. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8(2): 175-180.
84. Nachamkin I, Ung H, Li M. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8(12): 1501-1503.
85. Fitzgerald F, Whichard J, Nachamkin I. Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* species. In: Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. Washington, DC, USA: American Society for Microbiology 2008: 227-243.
86. McNulty CAM. The treatment of campylobacter infections in man. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1987; 19(3): 281-284.
87. Wieczorek K, Osek J. Antimicrobial Resistance Mechanisms among *Campylobacter*. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 340605.
88. Scharff RL. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. *J Food Prot* 2012; 75(1): 123-31.
89. Ketley JM. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol.* 1997; 143(1): 5-21.
90. Black R, Levine M, Clements M, Hughes T, Blaser M. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J Infect Dis* 1988; 157(3): 472-9.
91. Blaser MJ. Epidemiologic and Clinical Features of *Campylobacter jejuni* Infections. *J Infect Dis* 1997; 176(2): 103-5.
92. Nyati KK, Nyati R. Role of *Campylobacter jejuni* infection in the pathogenesis of Guillain-Barré syndrome: an update. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 859125.
93. WHO. The global view of *Campylobacteriosis*, in: the World Health Report, 2013.
94. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2597>. (Erişim tarihi; 13.12.2016)
95. Schielke A, Rosner BM, Stark K. Epidemiology of *Campylobacteriosis* in Germany insights from 10 years of surveillance. *BMC Infectious Diseases* 2014; 14: 30.
96. Lee MB, Middleton D. Enteric Illness in Ontario, Canada from 1997 to 2001. *J Food Protect* 2003; 66(6): 953-961.

97. Öngen B, Nazik H, Kaya I. Rutin Dışkı Kültürlerinde Üretilen *Campylobacter* Türleri Ve Antibiyotik Duyarlılıkları: 5 Yıllık Sonuçların Değerlendirilmesi. *Ankem Derg* 2007; 21(1): 37-41.
98. Gülmez D, Gür D, Haşçelik G, Güleşen R, Levent B. Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağına (Uepla) Dâhil Olan Bir Üniversite Hastanesinin Deneyimleri: Dört Yıllık *Salmonella*, *Shigella* Ve *Campylobacter* Verileri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2012; 42(3): 85-92.
99. Little CL, Richardson JF, Owen RJ, de Pinna E, Threlfall EJ. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003–2005. *Food Microbiol* 2008; 25(3): 538-43.
100. Hong J, Kim JM, Jung WK, Kim SH, et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat, pork, and beef in Korea, from 2001 to 2006. *J Food Prot* 2007; 70(4): 860-6.
101. Pezzotti G, Serafin A, Luzzi I, et al. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int J Food Microbiol* 2003; 82(3): 281-7.
102. Vipham JL, Brashears MM, Loneragan GH, et al. *Salmonella* and *Campylobacter* baseline in retail ground beef and whole-muscle cuts purchased during 2010 in the United States. *J Food Prot* 2012; 75(12): 2110-5.
103. Modirrousta S, Shapouri R, Rezasoltani S, Molaabaszadeh H. Prevalence of *Campylobacter* spp. and their Common Serotypes in 330 Cases of Red-meat, Chicken-meat and Egg-shell in Zanzan City, Iran. *Infect Epidemiol Med* 2016; 2(1): 8-10.
104. Mezher Z, Saccares S, Marcianò R, et al. Occurrence of *Campylobacter* spp. in Poultry Meat at Retail and Processing Plants Levels in Central Italy. *Ital J Food Saf* 2016; 5(1): 5495
105. Korsak D, Maćkiw E, Rozynek E, Żyłowska M. Prevalence of *Campylobacter* spp. in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef Meat in Poland between 2009 and 2013. *J Food Prot* 2015; 78(5): 1024-8.

106. Teck Lok Wong, Lauren Hollis, Angela Cornelius, Carolyn Nicol, Roger Cook, And John Andrew Hudson. Prevalence, Numbers, And Subtypes Of *Campylobacter jejuni* And *Campylobacter coli* In Uncooked Retail Meat Samples. Journal Of Food Protection 2007; 70(3): 566-573.
107. Guyard-Nicodème M, Rivoal K, Houard E, et al. Prevalence and characterization of *Campylobacter jejuni* from chicken meat sold in French retail outlets. Int J Food Microbiol 2015 Jun 16; 203: 8-14.
108. Ozbey G, Tasdemir B. Seasonality and antibiotic resistance of *Campylobacter* in Turkish chicken meat. Vet Ital 2014; 50(4): 277-83.
109. Levy AJ. A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio. Yale J Biol Med 1946; 18(4): 243-258.
110. Modi S, Brahmabhatt MN, Chatur YA, Nayak JB. Prevalence of *Campylobacter* species in milk and milk products, their virulence gene profile and anti-bio gram. Vet World 2015; 8(1): 1-8.
111. Mungai EA, Behraves CB, Gould LH. Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007–2012. Emerg Infect Dis 2015 January; 21(1): 119-122.
112. Moore JE, Caldwell PS, Millar BC, Murphy PG. Occurrence of *Campylobacter* spp. in water in Northern Ireland: implications for public health. Ulster Med J 2001; 70(2): 102-107.
113. Keener KM, Bashor MP, Curtis PA, Sheldon BW, Kathariou S. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. Comp Rev Food Sci and Food Safety 2004; 3(2): 105-115.
114. Humphrey TJ, Lanning DG. *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broiler chicken carcasses and scald tank water: the influence of water pH. J Appl Microbiol 1987; 63(1): 21-25.
115. Waldroup AL, Rathgeber BM, Forsythe RH, Smoot L. Effects of six modifications on the incidence and levels of spoilage and pathogenic organism on commercially processed post-chill broilers. J Appl Poult Res 1992; 1(2): 226-234.
116. Zhao T, Ezeike GOI, Doyle MP, Hung YC, Howell RS. Reduction of *Campylobacter jejuni* on poultry by low-temperature treatment. J Food Prot 2003; 66(4): 652-5.

117. Grau FH. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter hyointestinalis* in the intestinal tract and on the carcasses of calves and cattle. J Food Prot 1988; 51(11): 857-861.
118. Vandamme P, Dewhirst FE, Paster BJ, On SLW. *Campylobacteraceae*, In Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (ed), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 2. Springer Science, New York, NY 2005: 1147-1160.
119. Kim SA, Lee YM, Hwang IG, et al. Eight enrichment broths for the isolation of *Campylobacter jejuni* from inoculated suspensions and ground pork. Lett Appl Microbiol 2009; 49(5): 620-6.
120. Labbé RG, García S. Guide to Foodborne Pathogens (2 nd Ed) Jhon Wiley and Sons, Inc. West Sussex, UK 2013.
121. A Corry JEL, Post DE, Colin P, et al. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. Int J Food Microbiol 1995; 26(1): 43-76.
122. Gharst G, Oyarzabal OA, Hussain SK. Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. J Microbiol Methods 2013; 95(1): 84-92.
123. Oyofa BA, Thornton SA, Burr DH, et al. Specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992; 30(10): 2613-2619.
124. Somma M, Querci M. The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. Chapter 6; PCR (Polimerase Chain Reaction). Italy 2006: 9.
125. 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.
126. Aydın F, Gümüşsoy KS , İça T. The Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Various Sources in Kayseri, Turkey, and Molecular Analysis of Isolated Strains by PCR-RFLP. Turk J Vet Anim Sci 2007; 31(1): 13-19.
127. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turek M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol 1966; 45: 493-496.

128. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Informational Supplement M100-S20. Vol. 30, No. 1 Replaces M100-S19 vol. 29 no. 3. Wayne, Pennsylvania. CLSI, 2010
129. National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS. Performance standards for antimicrobials disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-second edition. M31-A3, Wayne, Pennsylvania, 2008
130. Abay S, Kayman T, Otlu B, et al. Genetic diversity and antibiotic resistance profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry and humans in Turkey. Int J Food Microbiol 2014; 178: 29-38.
131. Yıldız A, Diker KS. *Campylobacter* contamination in chicken carcasses. Doğa Turk J Vet Anim Sci 1992; 16(3): 433-439.
132. Bostan K, Aydın A, Küçüker Ang M. Prevalence and antibiotic susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species on beef, mutton, and chicken carcasses in Istanbul, Turkey. Microb Drug Resist 2009 Jun; 15(2): 143-9.
133. Madden RH, Moran L, Scates P. Frequency of occurrence of *Campylobacter* spp. in red meats and poultry in Northern Ireland and their subsequent subtyping using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and the random amplified polymorphic DNA method. J Appl Microbiol 1998; 84(5): 703-8.
134. Turgay Ö, Bozdoğan H. Kırmızı Ette *Campylobacter* Türlerinin Varlığı ve Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi. KSÜ Doğa Bil Derg 2001; 14(3); 5-8.
135. Aksu H, Bostan K, Aydın A, İstanbul'da tüketime sunulan ham kıymalarda *Campylobacter jejuni*'nin mevcudiyeti üzerine bir araştırma. YYÜ Vet Fak Derg 1997; 8(1-2): 102-104.
136. Elmalı M. Sığırların Bakteriyolojik Et Muayenesi Örneklerinde Termofilik *Campylobacter* Türlerinin izolasyon ve İdentifikasyonu. Vet Bil Derg 2004; 20(1): 39-44.
137. Madden RH, Espie WE, Moran L, McBride J, Scates P. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on beef carcasses in Northern Ireland. Meat Science Volume 2001; 58(4): 343-346.
138. Ono K, Yamamoto K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. Int J Food Microbiol 1999; 47(3): 211-9.

139. Zhao C, Ge B, De Villena J, et al. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, Turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C., area. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(12): 5431-6.
140. Pezzotti G, Serafin A, Luzzi I, et al. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int J Food Microbiol* 2003; 82(3): 281-7.
141. Bolton FJ, Dawkins HC, Hutchinson DN. Biotypes and serotypes of thermophilic campylobacters isolated from cattle, sheep and pig offal and other red meats. *J Hyg (Lond)* 1985; 95(1): 1-6.
142. Whyte P, McGill K, Cowley D, et al. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. *Int J Food Microbiol* 2004; 95(2): 111-8.
143. Korsak N, Daube G, Ghafir Y, Chahed A, Jolly S, Vindevogel H. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J Food Prot* 1998; 61(5): 535-41.
144. Sammarco ML, Ripabelli G, Fanelli I, Grasso GM, Tamburro M. Prevalence and biomolecular characterization of *Campylobacter* spp. isolated from retail meat. *J Food Prot* 2010; 73(4): 720-8.
145. Kashoma IP, Kassem II, John J, et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Isolated from Dressed Beef Carcasses and Raw Milk in Tanzania. *Microb Drug Resist* 2016; 22(1): 40-52.
146. Lammerding AM, Garcia MM, Mann ED, et al. Prevalence of *Salmonella* and Thermophilic *Campylobacter* In Fresh Pork, Beef, Veal and Poultry in Canada. *Journal of Food Protection* 1988; 1: 47-52.
147. Vipham J, Brooks C, Miller M, Brashears M, Echeverry A. A Survey of *Campylobacter* in Beef Cuts at Retail. Beef research online. http://www.beefresearch.org/CMDocs/BeefResearch/Safety_Project_Summaries/FY09_A_survey_of_Campylobacter_in_beef_cuts.pdf (12.12.2016).
148. Cloak OM, Duffy G, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA. A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of a surface adhesion polymerase chain reaction (SA-PCR) assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. *Food Microbiology* 2001; 18(3): 287-298.

149. Modirrousta S, Shapouri R, Rezasoltani S, Molaabaszadeh H. Prevalence of *Campylobacter* spp. and their Common Serotypes in 330 Cases of Red-meat, Chicken-meat and Egg-shell in Zanjan City, Iran. *Infect Epidemiol Med* 2016; 2(1): 8-10.
150. Balamurugan S, Nattress FM, Baker LP, Dilts BD. Survival of *Campylobacter jejuni* on beef and pork under vacuum packaged and retail storage conditions: examination of the role of natural meat microflora on *C. jejuni* survival. *Food Microbiol* 2011; 28(5): 1003-10.
151. Lawson AJ, Logan JM, O'Neill GL, Desai M, Stanley J. Large-scale survey of *Campylobacter* species in human gastroenteritis by PCR and PCR-enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1999; 37(12): 3860-4.
152. Richardson JF, Frost JA, Kramer JM, Thwaites RT, Bolton FJ, Wareing DR, Gordon JA. Coinfection with *Campylobacter* species: an epidemiological problem. *J Appl Microbiol* 2001; 91(2): 206-11.
153. Ruberg F, Steinbrückner B, Kist M. The simultaneous detection of different *Campylobacter* strains during human infection is rare. In: Lasticova, AJ, Newell D, Lasticova EE, eds. *Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms*. The Rustica Press, Pinelands, South Africa 1998: 65-7.
154. Kramer JM, Frost JA, Bolton FJ, Wareing DRA. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J Food Protect* 2000; 63: 1654-9.
155. Nzouankeu A, Ngandjio A, Ejenguele G, Njine T, Wouafo MN. Multiple contaminations of chickens with *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* in Yaounde (Cameroon). *J Infect Dev Ctries* 2010; 4(9): 583-586.
156. Koene MG, Houwers DJ, Dijkstra JR, Duim B, Wagenaar JA. Simultaneous presence of multiple *Campylobacter* species in dogs. *J Clin Microbiol* 2004; 42(2): 819-821.
157. Koene MG, Houwers DJ, Dijkstra JR, Duim B, Wagenaar JA. Strain variation within *Campylobacter* species in fecal samples from dogs and cats. *Vet Microbiol* 2009; 133(1-2): 199-205.
158. Kayman T, Aydın F, Abay S, Diker KS. Akut Gastroenteritli Hastalarda *Campylobacter jejuni* Alt Tipleri ile Koenfeksiyon. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015; 45(3): 117-121.

159. Hakkinen M, Heiska H, Hänninen ML. Prevalence of *Campylobacter* spp. in cattle in Finland and antimicrobial susceptibilities of bovine *Campylobacter jejuni* strains. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73(10): 3232-8.
160. Wieczorek K, Szewczyk R, Osek J. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from retail raw meat in Poland. *Veterinarni Medicina* 2012; 57(6): 293-299.
161. Savaşan S, Çiftçi A, Diker S. Emergence Of Quinolone Resistance Among Chicken Isolates Of *Campylobacter* In Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 391-397.

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı: Aydın YAĞIZ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 05.02.1985, Hacıbektaş

Medeni Durumu : Bekar

Tel: 0 5335109436

e-mail: yagizat@gmail.com

Yazışma Adresi: İnönü Mah. 739 Sok. Nu: 23 Daire :1 Bornova/İZMİR

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi	2007
Yüksek Lisans	ERÜ Sağlık Bil. Ens.	2017

YABANCI DİL

İngilizce

İŞ DENEYİMLERİ

2007-2007	Orhan Tarım A.Ş.	Sorumlu Veteriner Hekim
2008-2012	Türk Silahlı Kuvvetleri	Sözleşmeli Subay
2013-Halen	Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı	Veteriner Hekim