

PİLİÇ KÜMESLERİ VE KESİM HANELERİNDE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* KONTAMİNASYONUNUN BELİRLENMESİ

Detection of *Campylobacter jejuni* Contamination in Poultry Houses and Slaughterhouses

Ahmet KOLUMAN¹

¹ Tarım Bakanlığı,
Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı,
Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
ANKARA

Geliş Tarihi: 19.03.2010
Kabul Tarihi: 06.06.2010

İletişim:

Ahmet KOLUMAN
T.C. Tarım Bakanlığı,
Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı,
Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
Fatih Sultan Mehmet Bulvarı,
No: 70, Yenimahalle-ANKARA

Tel : +90 312 327 41 81
E-posta : ahmetkoluman@hotmail.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, piliç kesimhanelerinde yeni kesilmiş piliç karkaslarından alınan piliç boyun derileri ve bağırsak içeriği ile piliçlerin kesimhaneye getirildiği kümeslerden alınan yem ve su örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerini kültür tekniği ile belirlenmesi ve *Campylobacter jejuni* olarak saptanan suşların PCR tekniği ile doğrulanması amaçlanmıştır.

Yöntem: İki farklı piliç kesimhanesinden sıcak (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos) ve soğuk aylarda (Kasım, Aralık, Ocak, Şubat) 160 adet piliç boyun derisi, 160 adet bağırsak içeriği ile 32'şer adet yem ve su örneği olmak üzere toplam 384 örnek alınmıştır. Alınan tüm örneklerde, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda zenginleştirme işlemine dayalı ISO (The International Organization for Standardization, 10272) yöntemi kullanılmıştır. Suşlar *ceuE* geni ile doğrulanmıştır.

Bulgular: Toplam 384 örneğin 248 (% 64.58)'inin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. 160 boyun derisi örneğinin 138 (% 86.25)'i, 160 bağırsak içeriği örneğinin 106 (% 66.25)'i ve 32 su örneğinin dördünde (% 12.5) termofilik *Campylobacter* türleri saptanmıştır. Yemlerden yapılan analizlerde ise her hangi bir etken bulunamamıştır. *Campylobacter* türleri saptanan 138 boyun derisi örneğinden 82 (% 51.25)'sinin, 106 bağırsak içeriği örneğinden 122 (% 76.25)'sinin ve dört kümes suluk örneğinden üçünün *C. jejuni* olduğu belirlenmiştir. Suluklardan saptanan tüm etkenler kase tipi olanlardan izole edilmiş olup damla tipi olanlardan alınan örneklerin hiçbirinde *Campylobacter* türü belirlenmemiştir. Her iki işletmeden alınan 80'er boyun ve bağırsak içeriği ile 16'şar su ve yem örneği olmak üzere toplam 192'şer örneğin sıcak aylarda 116 (% 60.42)'sında soğuk aylarda ise 91 (% 47.40)'inde *C. jejuni* saptanmıştır. Sıcak aylarda alınan örneklerdeki kontaminasyon oranı soğuk aylara oranla % 14.20 daha yüksek bulunmuş ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($p=0.0021$) belirlenmiştir. Klasik kültür yöntemleriyle tanımlanan 207 *C. jejuni* suşu, 171 (% 82.00)'i PCR tekniği ile de doğrulanmıştır. Toplam 384 örnekten 1220 adet termofilik *Campylobacter* suşu izole edilmiş ve bunların ISO yöntemine göre yapılan tanımlama testleri sonucunda 649'unun *C. jejuni*, 515'inin *C. coli*, 56'sının *C. lari* olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Piliç kümeslerinden kesimhaneye getirilen piliçlerin, kesim işlemine bağlı olarak *C. jejuni* ile kontamine olduğu ve izolasyon ve tanımlamada *ceuE* ile yapılan doğrulanmanın uygun olduğu düşünülmektedir. Elde edilen verilerin ışığında *Campylobacter jejuni*'nin kanatlı etlerinde bulunduğu ve bunun halk sağlığı yönünden önem gösterdiği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: PCR, Piliç, *Campylobacter*

ABSTRACT

Objective: This study was designed to determine the presence of thermophilic *Campylobacter spp.* using the conventional cultural technique from neck skin, intestinal contents of slaughtered chickens, and water, feed samples of same flock taken at the farm level. *C. jejuni* strains obtained using conventional cultural techniques were confirmed using the PCR technique.

Method: 384 samples consisting of 160 chicken neck skin, 160 intestinal content, 32 feed, and 32 water samples were obtained from two different slaughterhouses in hot (May, June, July, August) and cold months (November, December, January, February). The enrichment based ISO (The International Organization for Standardization, 10272) method was used for the isolation and identification of thermophilic *Campylobacter spp.* in all samples. Strains were verified by *ceuE* gene.

Results: 248 (64.58%) of the 384 samples were found to be contaminated with thermophilic *Campylobacter* species. 138 (86.25%) of the 160 chicken neck skin, 106 (66.25%) of the intestinal content and 4 (12.5%) of the 32 water samples were contaminated with thermophilic *Campylobacter* species. Nothing was found in the analysis of feed. *C. jejuni* was the species of *Campylobacter* determined in 82 (51.25%) of the 138 neck skin samples, 122 (76.25%) of the 106 intestinal contents samples and three of the four sets of drinker samples. All the factors identified in the drinkers were isolated from bowl type ones and *Campylobacter* species could not be determined in none of the samples of nipple type watering system. *C. jejuni* was determined in 116 (% 60.42) of the samples in hot months and 91 (% 47.40) in cold months of the 192 samples in total taken from each farm, 80 intestinal content, 80 neck, 16 water and 16 feed samples). Contamination rate for the samples taken in warmer months was 14.20% higher than in colder months and the difference was statistically significant ($p = 0.0021$). 171 (82.00%) of the 207 *C. jejuni* strains defined by classical culture methods were also confirmed with PCR technique. 1220 thermophilic *Campylobacter* strains isolated from 384 samples in total and they were identified in 649 as *C. jejuni*, 515 as *C. coli* and 56 as *C. lari* according to ISO methods.

Conclusion: It was determined that *C.jejuni* contamination of chicken flocks in slaughter houses occurs during the processing. *ceuE* gene is found to be a good primer for confirmation of the presence of thermophilic *Campylobacter spp.* in the strains. Data acquired from this study underlines that *Campylobacter jejuni* found in poultry meat is an important public health hazard.

Key Words: PCR, Chicken, *Campylobacter*

GİRİŞ

Diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye’de de beyaz et üretiminde kanatlı yetiştiriciliği ve kanatlı eti üretim sektörlerinde çok hızlı bir büyüme meydana gelmiştir. Ancak, piliç eti tüketimindeki artışa bağlı olarak gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarında da belirgin bir artış olduğu ve özellikle piliç eti tüketiminden kaynaklanan gıda enfeksiyonlarında *Campylobacter jejuni*’nin birinci derecede rol oynadığı bildirilmiştir (1-3). Bunun sonucunda oluşan gastroenterit ve Guillain Barré Sendromu gibi komplikasyonların hem iş gücü kaybına hem de tedavi masraflarına yol açarak önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (4).

Klasik kültür tekniklerinin hem pahalı olması hem de çok zaman almalarından dolayı tanımlamada daha duyarlı ve hızlı tanımlama tekniklerinin geliştirildiği kaydedilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction - PCR), invivo koşullarda gerçekleşen DNA replikasyon işleminin, invitro koşullara taşınması olarak tanımlanmıştır. Gonzalez ve ark., *C. jejuni* ve *C. coli*’nin ayırımında her iki türde farklı dizilim gösteren ve siderofor taşıma proteinini kodlayan *ceuE* genini kullandıklarını bildirmişlerdir (5).

Bu çalışmada piliç kümesleri ve kesimhanelerinden alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin

varlığı saptanarak mevsimsel dağılımı incelenmiş ve elde edilen kültürlerden *C. jejuni*'nin *ceuE* geni kullanılarak PCR ile doğrulanmasının yapılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiş ve iki aşamadan oluşmuştur. Birinci aşamada, örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı klasik kültür tekniği ile belirlenmiş, ikinci aşamada ise klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen izolatların, PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla, çalışmanın birinci aşamasında farklı iki 160 adet piliç boyun derisi ile 160 bağırsak içeriği alınmıştır. Ayrıca piliçlerin kesime geldiği kümeslerden alınan 32'şer adet yem ve su örneğini içeren toplam 384 materyalde, klasik kültür tekniği kullanılarak termofilik *Campylobacter*'lerin varlığı araştırılmıştır. Mevsimsel farklılığın etkisini belirlemek amacıyla kümeslere sıcak (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos) ve soğuk aylarda (Kasım, Aralık, Ocak, Şubat) ikişer kez gidilmiş ve her bir gidişte 10 boyun derisi, 10 bağırsak içeriği ile ikişer adet yem ve su örneği alınmıştır. Alınan tüm örneklerde, termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonda zenginleştirme işlemine dayalı ISO (The International Organization for Standardization, 10272) yöntemi kullanılmıştır (6). Bu kapsamda, 25g örnek 225ml Bolton broth içerisinde 24 saat 42°C'de mikroaerofilik olarak inkübe edilmiştir. Inkübasyonu takiben bir öze dolusu ön zenginleştirme alınarak CCD (Charcoal Cephaperazon Deoxycholate) agara çizilmiş ve mikroaerofilik olarak 48 saat 42°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Takiben *Campylobacter spp* açısından tipik koloniler kanlı agara aktarılmış 24 saat 42°C'de mikroaerofilik olarak inkübe edilmiş ve buradan da Mueller Hinton Agar'da nalidiksik asit ve sefalotin antibiyotik dirençlilikleri yönünden incelenmiştir. Takiben hippurat analizi yapılarak hippurat pozitif, nalidiksik asite duyarlı sefalotine dirençli suşlar *C. jejuni* olarak kabul edilmiştir. Tüm

aşamalarda pozitif kontrol amacıyla *C. jejuni* (ATCC 33291,) ve negatif kontrol amacıyla *Escherichia coli* (ATCC 25922,) kullanılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen suşların PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. PCR işlemi için Gonzales ve ark. (1997) tarafından önerilen *ceuE* geni JEJ1:5'CCTGCTACGGTAAAGTTTTGC'3 JEJ2:5'GATCTTTTGTGGTGCTGC'3 amplifikasyonu kullanılmıştır (5).

Bu amaçla, -70°C'de muhafaza edilen suşlar çözündükten sonra, 1-2 öze dolusu materyal ön zenginleştirme CCD agara geçilerek, 42°C'de 24-48 saat süreyle mikroaerofilik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. CCD agarda üreyen koloniler 1 ml steril bidistile su içerisinde süspanse edilip, 95°C'de 10 dakika süreyle su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan çıkartılan örnekler, 4°C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek DNA ekstraksiyonu sağlanmıştır. Gonzales ve arkadaşları'nın önerdiği protokol gereği toplam 25 µl hacimde optimum konsantrasyonlar şu şekilde kullanılmıştır (5): 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM deoksiribonükleotid karışımı, 1 µM her bir primerden, 0.5 U Taq polymerase. Tüm karışım bir ependorf tüpe konularak, üzerine 2 µl DNA örneği ilave edilerek mineral yağ ile kapatılmıştır. Örnekler ısı döngüsü cihazında (Biometra Personel Cycler) 30 döngü (94 °C'de 30 saniye, 57 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 1 dakika, 94 °C'de 3 dakika ve son aşamada 72 °C'de 5 dakika, 4°C'de muhafaza) geçirecek biçimde tutulmuştur. Bunu takiben PCR amplifikasyon ürünlerinden 10 µl alınarak, 2 µl fikol brom fenol mavisi ile boyanmıştır. Elektroforez (Biometra Agagel Maxi, B15359) işlemi, 1 µl/ml etidyum bromid içeren % 1.5 agaroz jelde, 100 volt altında (Biometra Powerpack P25) bir saat yürütülerek yapılmıştır. Daha sonra agaroz jel transilüminatöre (Biometra TI1 UV) aktarılmış, DNA Marker yardımıyla *ceuE*'nin 793 bp'lik amplifikasyon ürünleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (5).

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

BULGULAR

Bu çalışma, 2004 ve 2005 yıllarında sıcak aylar (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos) ve soğuk aylarda (Kasım, Aralık, Ocak, Şubat) iki farklı piliç kesimhanesinde gerçekleştirilmiştir. Alınan toplam 384 örnekte (160 adet piliç boyun derisi, 160 adet piliç bağırsak içeriği, 32 adet su ve 32 adet yem örneği) klasik kültür yöntemi kullanılarak termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı araştırılmıştır. Klasik kültür yöntemiyle *C. jejuni* olarak belirlenen izolatlarının PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır.

Bu kapsamda incelenen toplam 384 örneğin 248 (% 64.58)'inin, termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır.

160 boyun derisi örneğinin 138 (% 86.25)'i termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu ve bunların da 122 (% 76.25)'sinin *C. jejuni* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 160 bağırsak içeriği örneğinin 106 (% 66.25)'sinin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu ortaya konulmuş, bunlardan 82 (% 51.25)'sinde *C. jejuni* olduğu saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Piliçlerden alınan örneklerde termofilik *Campylobacter* ve *C. jejuni* kontaminasyon düzeyleri

Örnek Tipi (n)	Pozitif örnek/Analiz edilen örnek (%)	
	<i>Campylobacter</i> spp. saptanan örnek sayısı (%)	<i>C. jejuni</i> saptanan örnek sayısı (%)
Boyun Derisi (n=160)	138 (86.25)	122 (76.25)
Barsak İçeriği (n=160)	106 (66.25)	82 (51.25)
Toplam (n=320)	244 (76.25)	204 (63.75)

Kümeslerden toplanan sekizi kase suluk, 24'ü damla suluk sisteminden olmak üzere alınan toplam 32 su örneğinin dördünde (% 12.5) termofilik *Campylobacter* türleri saptanmıştır. Kase suluklardan alınan sekiz örneğin dördünün (% 50), termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmasına karşın damla suluklardan alınan örneklerin hiçbirinde (% 0) termofilik *Campylobacter* türü belirlenememiştir. Kümes suluklarından saptanan dört termofilik *Campylobacter* türünden üçünün *C. jejuni* olduğu ortaya konmuştur.

Yemlerden yapılan analizlerde hiç termofilik *Campylobacter* bulunamamıştır.

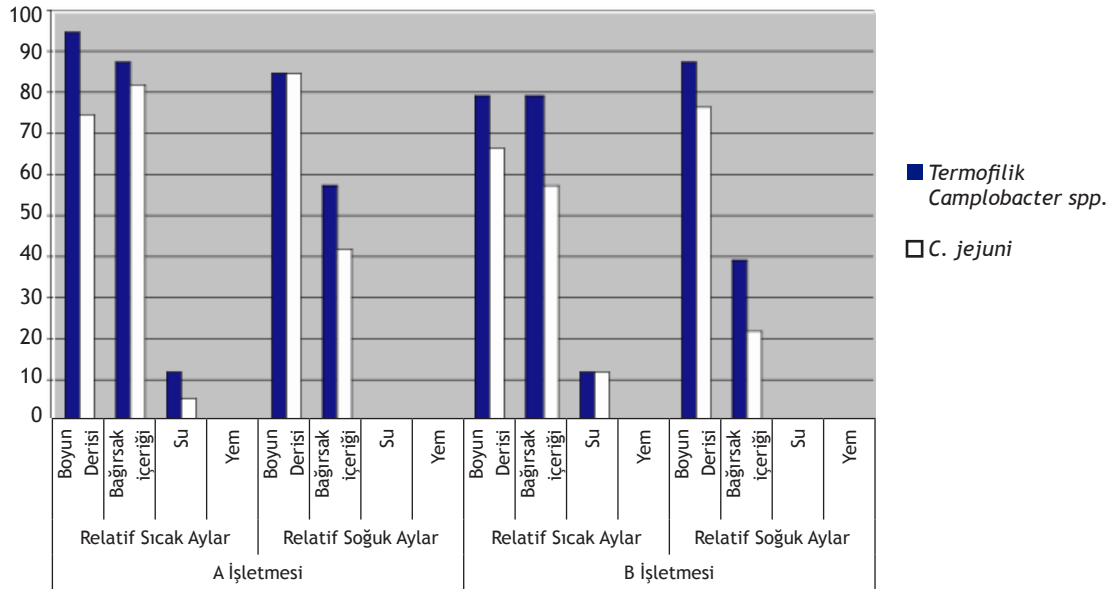
Her iki işletmeden alınan 80'er boyun ve bağırsak içeriği ile 16'şar su ve yem örneği olmak üzere toplam 192'şer örneğin sıcak aylarda 116 (% 60.42)'sında soğuk aylarda ise 91 (% 47.40)'inde *C. jejuni* saptanmıştır (Tablo 2). Sıcak aylarda alınan örneklerde *C. jejuni* kontaminasyonu, soğuk aylara oranla daha yüksek düzeyde (% 14.20) bulunmuştur. İstatistiksel yönden yapılan analizde de mevsimsel farklılığın önemli olduğu (p=0.0021) belirlenmiştir.

İşletmelerden farklı aylarda toplanan örneklerin kontaminasyon durumu Şekil 1'de özetlenmiştir.

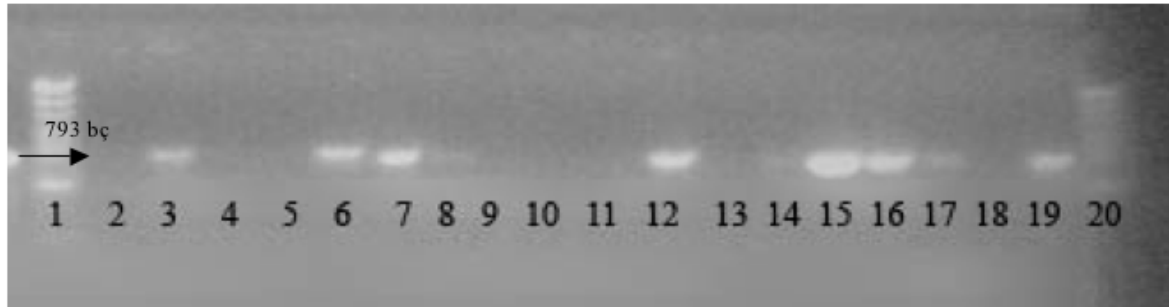
Bu çalışmanın ikinci aşamasında, klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen suşların PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. Klasik kültür yöntemleriyle identifiye edilen 207 *C. jejuni* suşunun 171 (% 82.00)'i PCR tekniği ile de doğrulanmıştır. Elde edilen PCR sonuçlarından bazıları örnek olarak Şekil 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Piliçlerden alınan örneklerde saptanan *C. jejuni* kontaminasyonunun mevsimsel dağılımı

Örnek tipi	Pozitif örnek/Analiz edilen örnek (%)	
	Sıcak Aylar	Soğuk Aylar
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
Boyun derisi	57/80 (71.25)	65/80 (81.25)
Bağırsak içeriği	56/80 (70.0)	26/80 (32.50)
Suluk örnekleri	3/16	0/16
Yem örnekleri	0/16	0/16
Toplam	116/192 (60.42)	91/192 (47.40)



Şekil 1. İki farklı piliç kesimhanesinde ve farklı örneklerde saptanan termofilik *Campylobacter* türleri ve *C.jejuni* kontaminasyonunun mevsimsel dağılımı.



Şekil 2. Piliçlerde saptanan *C.jejuni* suşlarından elde edilen PCR amplifikasyon ürünleri örnekleri. [1 ve 20 DNA marker, 2-4-5-9-10-11-13-18 negatif sonuç, 3-6-7-8-12-16-17-19 pozitif sonuçlar, 15 pozitif kontrol, 14 negatif kontrol (bidistile su)].

Toplam 384 örnekten 1220 adet termofilik *Campylobacter* suşu izole edilmiştir. İzole edilen suşların ISO yöntemine göre yapılan tanımlama testleri sonucunda 649'unun *C. jejuni*, 515'inin *C. coli*, 56'sının *C. lari* olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Jorgensen ve ark. yaptıkları çalışmada, 181 boyun derisi örneğinin 157 (% 86.74)'sinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığını rapor etmişlerdir (7). Benzer şekilde, Berndtson ve ark. kesim sırasında

örnekledikleri 100 adet pilice ait boyun derisi, karn boşluğu ve göğüs etinde termofilik *Campylobacter* türlerinin ortalama %83 düzeyinde bulunmasına karşın, boyun derisi örneklerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin % 89 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir (8). Berrang ve ark. svap tekniği ile aldıkları 120 göğüs derisi örneğinin 95 (% 79.16)'inin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir (9). Rivoal ve ark. 10'ar adet piliç boyun derisi örneğini gruplandırarak, tek örnek olarak kabul ettikleri çalışmada 20 grup incelemişler ve bu

gruplardan 18 (% 90)'inin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir (10).

Rivoal ve ark. 10'arlı gruplar halinde aldıkları 20 adet boyun derisi örneğinin (n=200) 16 (% 80)'sında *C. jejuni* kontaminasyonu saptamışlardır (28). Ono ve Yamamoto ise, piliç kesimhanesinden iç organ çıkartma işlemini takiben aldıkları, 44 piliç karkas örneğinde *C. jejuni* kontaminasyonunun % 77.8 düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir (11).

Bu çalışmanın bulgularıyla uyum gösteren, Cox ve ark. tarafından yapılan çalışmada 35 adet sürüden alınan toplam 875 adet dışkı örneğinin, 542 (% 62)'sinin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir (12). Kesimhanelerden alınan bağırsak içeriği örneklerinde termofilik *Campylobacter* türleriyle kontaminasyon üzerine yapılan çalışmalarda, Musgrove ve ark. % 63.30, Saleha (13, 14) % 72.63 düzeylerinde kontaminasyon bildirilmiş olup, bu çalışmanın sonuçları ile uyumludur.

Bağırsak içeriği örneklerinde *C. jejuni*'nin Diker ve ark. % 42.70, Diker ve ark. % 50.70, Beery ve ark. % 55.60, Diker ve Yardımcı % 39.10, Stern ve ark. % 40.90, Saleha % 51.50, Shreeve ve ark. % 53, Herman ve ark. % 54 ve Berrang ve ark. % 63 düzeyinde bulunduğu bildirilmiş olup, araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmanın bulguları genelde uyum göstermektedir (15-23).

Berndtson ve ark. yaptıkları çalışmada, 18 piliç kümesine ait kase suluk ve damla suluk sistemlerinden aldıkları su örneklerinden sadece kase suluklarda % 21.00 düzeyinde kontaminasyon olduğunu rapor etmişlerdir (24). Yapılan başka bir çalışmada ise piliç kümeslerindeki kase suluklardan alınan 300 adet svap örneğinin 90 (% 31.00)'ünün, termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu bildirilmiştir (9). Bu çalışmada, damla suluk sistemlerinden alınan örneklere ilişkin bulgular, başka bir çalışmada damla suluk sistemlerinden alınan örneklere ilişkin bulgularla uyumludur (24). Aynı şekilde, bu çalışmada kase suluklarda saptanan bulgular (% 50.00), Berndtson

ve ark. ile Berndtson ve ark. (25) bulgularından (% 21-31) yüksek olup, bu farklılığın muhtemelen örnek sayısı ile kümes hijyeninden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür (24-25). Benzer şekilde, yapılan bazı çalışmalarda da (24-26) kase suluklardan alınan su örneklerinin hiçbirinde termofilik *Campylobacter* türünün bulunmadığı rapor edilmiştir. Ancak, Jones ve ark. çalışmalarında kase su örneklerinde termofilik *Campylobacter* türünün bulunmamasının beklenmedik bir sonuç olduğunu ve bunun kümes içerisindeki ölü piliçlerin bulundurulmamasıyla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (25). Aynı şekilde, Evans ve Sayers'de 100 sürüye ait kümeslerden alınan, kase klorlu su örneklerinin hiçbirinde termofilik *Campylobacter* türünün bulunmadığını bildirmişlerdir (27).

Berndtson ve ark. piliç kümeslerindeki kase suluklardan aldıkları, 300 adet sürüntü örneğinin 72 (% 24)'sinde *C. jejuni* saptamışlardır (9). Aynı şekilde başka bir çalışmada da 18 piliç kümesinin kase suluk ve damla suluk sistemlerinden alınan su örneklerinden sadece, kase suluklarda % 18 düzeyinde *C. jejuni* kontaminasyonu olduğu bildirilmiştir (24). Bu çalışmada, kümeslerden alınan 32 adet yem örneğinin hiçbirinde termofilik *Campylobacter* türü bulunamamıştır. Benzer şekilde yapılan çalışmalarda, Jones ve ark. ile Pearson ve ark. kümeslerden aldıkları sırasıyla 10 ve 18 adet yem örneğinde, termofilik *Campylobacter* türü saptayamamışlardır (9, 26). Yine, Berndtson ve ark. da 18 adet kümeden aldıkları yem örneklerinin hiçbirinde, termofilik *Campylobacter* türünün bulunmadığını rapor etmişlerdir (9).

Klasik kültür tekniği ile *C. jejuni* olarak belirlenen suşların, PCR tekniği ile doğrulandığı çalışmalarda elde edilen veriler arasında farklılıklar bulunduğu görülmektedir. Bazı araştırmacılar, PCR tekniği ile doğrulamasını yaptıkları *C. jejuni* suşlarının PCR tekniğinde % 100 düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Bu bağlamda, Gonzalez ve ark. *ceuE* genine özgü primer ile yaptıkları çalışmalarında, 12 adet *C. jejuni* suşunun tamamını (% 100) PCR tekniğinde saptamışlardır (5). Aynı şekilde başka bir çalışmada kültür tekniği ile piliç

bağırsak içeriği ve karaciğerlerden izole ettikleri *C. jejuni* suşlarının tamamının (% 100) *ceuE* gen sekansını taşıdıklarını belirlemişlerdir (29). Benzer şekilde, Wang ve ark. da *ceuE* genine özgü primer ile yaptıkları çalışmada, 70 adet *C. jejuni* suşunun tamamının (%100) multipleks PCR ile doğrulandığını bildirmişlerdir (30). Nayak ve ark. piliç kesimhanelerinden aldıkları bağırsak içeriği, karaciğer ile diyareli hastaların dışkı örneklerinden izole edilen *C. jejuni* suşlarının, *ceuE* gen sekansını kullanarak PCR işlemiyle % 97'sini doğrulamışlardır (30). Araştırmacılar ayrıca, yüksek MgCl₂ konsantrasyonları (3.5 mM) ile elde edilen PCR ürünlerinin, elektroforez sonucunda daha belirgin bantlar oluşturduğunu vurgulamışlardır. Wang ve ark. *ceuE* genine özgü primer kullanarak yaptığı PCR işlemi sonucunda, kültür tekniğinde pozitif olarak belirlenen suşların % 8'nin PCR tekniğinde doğrulanmadığını bildirmişlerdir (31). Araştırmacılar negatif sonuçların nedenini, muhtemelen ekstraksiyon sırasında koloniyle alınan besiyerlerinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Nitekim Ng ve ark. da besi yeri içeriğinde bulunan pepton ve agar kalıntısının, PCR ürünlerinin oluşmasını inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır (31).

Çalışma sonucunda, klasik kültür tekniğinde *C. jejuni* olarak belirlenen 207 suşun 171 (% 82)'i PCR tekniğinde de doğrulanmıştır. *C. jejuni*'nin tanımlamasında önem arz eden hippurat hidrolizi ve antibiyotik dirençlilik testlerinin, güvenilirliği düşük olduğundan yanıltıcı sonuçlar olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, termofilik *Campylobacter* türlerinin belirlenmesinde, türlere özgü primerler ile PCR tekniğinin daha hızlı ve güvenilir olacağı düşünülmektedir. Halk sağlığı yönünden ucuz protein kaynağı olan kanatlı etine olan talep yükselmekte buna karşılık bu talebi karşılayacak hijyenik üretilmiş arz sağlanamamaktadır. Çiftlikten sofraya bulaşma kaynaklarının ortaya konulması halk sağlığı yönünden katma değer sağlamaktadır.

Teşekkür ve Bilgi

Mahmut TATLİDEDE'ye maddi katkılarından dolayı teşekkür ederim. Bu çalışmanın tamamı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yürütülen "Piliç karkaslarına ait boyun derilerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı ve *C. jejuni*'nin PCR tekniği ile saptanması" başlıklı doktora tezinden alınmıştır.

KAYNAKLAR

1. Anonymous. Control of *Campylobacter* species in the food chain. 2002; Erişim Adresi: <http://www.fsai.ie> Erişim Tarihi: 22.11.2004.
2. Anonymous. UK-wide survey of Salmonella and *Campylobacter* contamination of fresh and frozen chicken on retail sale. Food Standards Agency. 2002.
3. Anonymous. Institute of Food Science and Technology: Campylobacteriosis and how to safe guard against it? 2003b; Erişim adresi: <http://www.ifst.org/hottop3.htm> Erişim tarihi:02.02.2004.
4. Anonymous. A review of campylobacteriosis in humans and animals from the eastern region 1999; ERHA Zoonosis Committee. Erişim adresi: <http://www.erha.org> Erişim tarihi: 18.05.2006.
5. Gonzalez I, Grant KA, Richardson PT, Park SF, Collins, MD. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. J Clin Microbiol, 1997; 35: 759-63.
6. Anonymous. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization 10272. 1995.
7. Berndtson E, Tivemo M, Engvall A. Distribution and numbers of *Campylobacter* in newly slaughtered broiler chickens and hens. Int J Food Microbiol, 1992; 15: 45-50

8. Berndtson E, Danielsson-Tham ML, Engwall A. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Food Microbiol*, 1996; 32: 35-47.
9. Berndtson E, Emanuelson U, Engwall A, Danielsson-Tham ML. A one year epidemiological study of *campylobacters* in 18 Swedish chicken farms. *Prev Vet Med.*, 1996; 26: 167-85.
10. Rivoval K, Denis M, Salvat G, Colin P, Ermel G. Molecular characterization of the diversity of the *Campylobacter* spp. isolates collected from a poultry slaughterhouse: analysis of cross contamination. *Lett Appl Microbiol*, 1999; 29:370-74.
11. Ono K, Yamamoto K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *Int J Food Microbiol*, 1999; 47:211-29.
12. Cox N, Stern N, Musgrove M, Bailey JS, Craven SE, Fedorka-Cray P, Buhr R, Hiatt R. Prevalence and level of *Campylobacter* in commercial broiler breeders (parents) and broilers. *J Appl Poult Res*, 2002; 11: 187-90.
13. Musgrove MT, Berrang ME, Byrd JA, Stern NJ, Cox NA. Detection of *Campylobacter* spp. in ceca and crops with or without enrichment. *Poult Sci*, 2001; 80:825-8.
14. Saleha AA. Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* from broiler chickens in Malaysia. *Int J Poult Sci*, 2002; 1:94-7.
15. Diker S, Aydın N, Yardımcı H, Arda M. Isolation of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis* from intestine of broilers. *AÜ Vet Fak Derg*, 1987; 34: 207-15.
16. Diker S, Yardımcı H, Aydın N. Location of thermophilic *Campylobacter* spp. in various parts of chicken intestines. *AÜ Vet Fak Derg*, 1987; 34: 570-76.
17. Beery JT, Hugdahl MB, Doyle MP. Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol*, 1988; 54: 2365-70.
18. Diker S, Yardımcı H. Isolation and characterization of *Campylobacter* species from chickens. *Doğa. Tu J Vet Sci*, 1989; 13: 257-64.
19. Stern NJ, Cray PF, Bailey JS, Cox NA, Craven SE, Hiatt KL, Musgrove MT, Ladely S, Cosby D, Mead GC. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *J Food Prot*, 2001; 11:1705-10.
20. Shreeve JE, Toszegky M, Ridley A, Newell DG. The carry over of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks. *Avi Dis*, 2002; 46: 378-85.
21. Herman L, Heyndrickx M, Grijspeerd K, Vandekerchove D, Rollier I, Zutter LD. Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: Epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol Infect*, 2003; 131: 1169-80.
22. Berrang ME, Dickens JA. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. *J Appl Poultry Res*, 2000; 9:43-7.
23. Berrang ME, Buhr RJ, Cason JA, Dickens JA. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J Food Prot*, 2001;64:2063-66.
24. Jones DM, Sutcliffe EM, Fox AJ, Curry A. Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni*. *J Gen Microbiol*, 1991 ; 137: 2477-82.
25. Jones FT, Axtell RC, Rives DV, Scheideler SE, Tarver JR, Walker RL, Wineland MJ. A survey of *Campylobacter jejuni* contamination in modern broiler production and processing systems. *J Food Prot*, 1991; 54: 259-62.
26. Pearson AD, Greenwood M, Healing D, Rollins D, Shahamat M, Donaldson J, Colwell RR. Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol*, 1993; 59:987-96.
27. Ng LK, Kingombe IB, Yan W, Taylor DE, Hiratsuka K, Garcia MM. Specific detection and confirmation of *Campylobacter jejuni* by DNA hybridisation and PCR. *Appl Environ Microbiol*, 1997; 63:4558-63.
28. Jørgensen F, Bailey R, Williams S, Henderson P, Wareing DRA, Bolton FJ, Frost JA, Ward L, Humprey TJ. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw whole chickens in relation to sampling methods. *Int J Food Microbiol*, 2002; 76:151-64.
29. Ertaş HB, Çetinkaya B, Muz A, Öngör H. Tavuk orijinli *Campylobacter coli* ve *Campylobacter jejuni*'nin Polymerase Zincir Reaksiyonu ile tanımlama. *Türk J Vet Anim Sci*, 2002; 26:1447-52.
30. Wang G, Clark C, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, Woodward DL, Rodgers FG. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus subs. fetus*. *J Clin Microbiol*, 2002; 40:4744-47.
31. Nayak R, Stewart TM, Nawaz M. PCR identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by partial sequencing of virulence genes. *Mol Cellular Prob*, 2005; 19:187-93.