

Yenidoğan Bir Buzağıda Zoonotik *Campylobacter jejuni*'nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu **

Serap KILIÇ ALTUN ^{1*}, Yıldırım KALKAN ², Şenay SEYİTOĞLU ³, Ömer Faruk KÜÇÜKKALEM ³,
Ufuk DİNLER ⁴

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye.

³Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.

⁴Hayvan Sağlığı Yetiştiriciliği ve Su Ürünleri Şube Müdürlüğü, İstanbul, Türkiye.

Geliş Tarihi: 22.10.2014

Kabul Tarih: 04.12.2014

Özet: *Campylobacteriosis* tüm dünyada yaygın görülen zoonoz bir enfeksiyondur. Bu olguda; iştahsızlık ve ishal gözlenen, antibiyotik ve vitamin preparatları ile yapılan semptomatik tedaviye de cevap vermeyerek ölen yeni doğan (yedi günlük) buzağıda *Campylobacter jejuni* tanımlanmıştır. Otopsisinde akciğerlerde hiperemi, karaciğerde dejenerasyonlar, dalakta nekrotik odaklar, barsaklarda kataral ve hemorajik değişiklikler görülen buzağının dokularının histopatolojik incelemesinde, barsak epitellerinde yer yer dökülmeler görüldü. Akciğerlerinde bağdoku artışı, alveollerde dejenerasyon ve çevrelerinde lenfosit infiltrasyonu, bronşlarda yoğun bakteri kümeleri, damar endotelinde dökülmeler görüldü. Karaciğerde portal boşluklarda lenfosit infiltrasyonu, damarlarda trombozlar ve çeperlerinde kalınlaşmalar, hepatositlerde erime nekrozu ve dejenerasyon, dalakta kas trabeküllerinde kalınlaşmalar, kalp kasında ödem gözlemlendi. Bakteriyolojik incelemelerde *Campylobacter jejuni* izole ve identifiye edildi.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, *Campylobacter jejuni*, izolasyon, identifikasyon

The Isolation and Identification of Zoonotic *Campylobacter jejuni* from a Newborn Calf

Abstract: *Campylobacteriosis* is a worldwide zoonotic infection. In this case report, *Campylobacter jejuni* was described in a newborn calf (seven days old) that had been suffered from diarrhea and loss of appetite and not responded to symptomatic antibiotic and vitamin treatments. In the necropsy, pulmonary hyperemia in the lungs, degenerations in the liver, focal necrosis in the spleen, catarrhal and necrotic alterations in the intestines were seen. In the histopathological examinations, desquamation in some areas of the intestinal epithelium of increases in the connective tissues of the lungs, degenerations in alveolus and lymphocyte infiltration around them, bacterial clumps in bronches, disintegrations of endothelium of blood vessels were seen. Lymphocyte infiltrations in liver portal space, thrombosis in blood vessels and thickness in the blood vessel walls, degeneration in hepatocytes were seen. Thickness of spleen and muscle trabeculas, oedema in heart muscle were observed. In the bacteriological examinations, *Campylobacter jejuni* was isolated and identified.

Keywords: Calf, *Campylobacter jejuni*, isolation, identification

Giriş

Campylobacter cinsine bağlı mikroorganizmalar ilk kez, 1913'de Mc. Fadyean ve Stockman (1913) tarafından İngiltere'de abort yapmış ineklerde ve koyunlarda uterus eksudatından izole edilmiştir. Diker ve İstanbulluoğlu (1995) Türkiye'de ilk kez *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* suşlarını sağlıklı ve ishalleri kuzu, buzağı ve köpek dışkılarından izole etmişlerdir. *Campylobacter* türleri, Gram negatif, sporsuz, S tipli koloni oluşturan ve spiral şekilli bakterilerdir. 0.2-0.8 mikrometre genişliğinde 0.5-5 mikrometre uzunluğunda tek polar flagellalı mikroaerofilik bakterilerdir. *Campylobacter*'ler üremeleri için minimum %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂ içeren ortamlara ihtiyaç duyarlar (Moore ve ark., 2005). *C. jejuni*, termofilik olup optimal üreme ısısı 42°C'dir. Memelilerin ve kuşların genellikle barsak

mukozalarında kolonize olurlar. *C. jejuni* ve *C. coli* zoonotik olduklarından dolayı en yaygın patojen türlerdir (Açık, 2006). *C. jejuni* ve *C. coli* insanlarda akut enterit, Guillain-Barre sendromu, akut artrit, abort ve karın ağrısına sebep olur (Skirrow ve Blaser, 2000). *Campylobacter* enfeksiyonları içinde, insanlarda *C. jejuni* %80 oranında enfeksiyona sebep olur (Lastovica ve Skirrow, 2000). Önceleri *Campylobacter jejuni* enfeksiyonlarının insanlara bulaşmasının yalnızca kontamine tavuk eti ile olduğu düşünülürken yapılan araştırmalarla pet hayvanları, çiftlik hayvanları, kümes hayvanları ve kontamine içme suyunun da bulaş kaynakları olduğu görüldü (Friedman ve ark., 2000).

C. jejuni, insanlarda gastroenteritisin, kedilerde ve köpeklerde ishalin (Fox ve ark., 1983; Torre, 1993; Tauxe, 1992) başlıca nedenleri arasındadır.

C. jejuni ve *C. coli* kanatlılarda hepatitis (Broman ve ark., 2002; Waldestrom ve ark., 2002); sığır koyun ve domuzlarda abortlara sebep olabilmektedir (Newel ve ark., 2000).

Olgu Tanımı

Olgu materyalini; Gümüşhane ili Kelkit ilçesindeki bir işletmenin sığır ünitesinde yeni doğan yedi günlük bir buzağı otopsisini oluşturdu. Sorumlu Veteriner Hekim; buzağıda doğum anından itibaren yedi günlük periyotta iştahsızlık ve ishal gözlendiğini, kinolon grubu antibiyotiğe ve vitamin preparatları ile yapılan semptomatik tedaviye cevap vermeyerek öldüğünü bildirmiştir. Buzağının otopsisinde; bağırsaklarda, dalakta ve akciğerlerde yoğun hiperemi tespit edilmiş olup daha sonra yapılacak histopatolojik ve bakteriyolojik incelemeler için doku numuneleri alınarak ilgili laboratuvarlara gönderildi. Bakteriyolojik incelemeler için akciğer, karaciğer, dalak, kalp ve böbrek dokuları alındı. Histopatolojik incelemeler için aynı numunelerden kesitler alınarak %10'luk formalin içinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

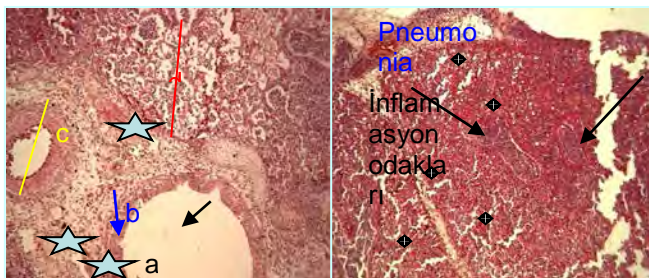
Bakteriyolojik incelemeler: Otopside alınan dokular ön zenginleştirme amacıyla Preston *Campylobacter* Selektif Broth'ta 42°C'de 48 saat etüvde inkube edildikten sonra *Campylobacter* Selektif Agara ekimi yapıldı. Petriyer CO₂'li gaz kiti ile sağlanan mikroaerofilik ortamda 42°C'de 48 saat inkube edildi. Şüpheli koloniler seçilerek saf kültürleri yapıldı. Bu kültürlerden mikroskopta Gram negatif, virgül, martı kanadı ve spiral şeklinde görülen koloniler *Campylobacter* spp. şüphesiyle ayrılarak identifikasyon testleri uygulandı (Skirrow ve ark., 1980). *Campylobacter* suşunun identifikasyonu amacı ile; oksidaz, katalaz, hareket, TSI agarda H₂S, hippurat hidrolizi testleri yapıldı (Anonim, 1996; Harvey,1980; Skirrow ve ark., 1980). Farklı ısılarda üreme özelliklerine bakıldı (Kenar ve Erganiş, 1994).

Histopatolojik incelemeler: Histopatolojik incelemeler için doku örnekleri %10'luk formol'de

24 saat süreyle tespit edildi. Ototeknikon (Shandom Citadel 1000, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany) doku takip cihazı ile Alkol-Ksilol rutin takip işlemleri yapıldıktan sonra hazırlanan parafin bloklardan Rotary Mikrotomda (Leica RM2255, Leica Biosystems, Nussloch, Germany) 5 µm'lik kesitler alınarak Hematoxilen-Eosin (Luna, 1968; Bancroft ve Cook, 1984) ile boyandı. Boyanan kesitler Olympus BH2 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.

Bulgular

Bakteriyolojik incelemelerde dokulardan yapılan izolasyon ve identifikasyon sonuçlarına göre *Campylobacter jejuni* izole ve identifiye edildi. Bu olguda identifiye edilen *Campylobacter jejuni* suşunun mikroskop objektifi altında daha çok virgül şeklinde olduğu diğer spesifik formlarının ise daha az sayıda olduğu belirlenmiştir. Besiyerinde *C. jejuni* suşlarının besi yerinin nem oranına bağlı olarak, basık, düzensiz kenarlı grimsi koloniler oluşturduğu gözlenmiştir. İdentifikasyon testlerinde; oksidaz, katalaz, hareket, TSI agarda H₂S testi ve hippurat hidroliz testi pozitif bulundu. *C. jejuni*, 37°C'de ve 42°C'de mikroaerofilik ortamda üreme gösterdi. Makroskobik incelemelerde bağırsaklarda, dalakta ve akciğerlerde yoğun hiperemi, histopatolojik incelemelerde ise; bağırsak epitellerinde yer yer dökülmeler, kriptlerin çevresinde diffuz lenfosit infiltrasyonları ve kümeleri, akciğerlerde interlobuler alanlarda yoğun bağdoku artışı, alveollerde dejenerasyon ve çevrelerinde yoğun perivasküler lenfosit infiltrasyonu ve alveolar lümenlerde eksudat birikintileri, bronşlarda yoğun bakteri kümeleri, damar endotellerinde şişmeler ve dökülmeler, karaciğerin portal boşluklarda bağ doku artışı, lenfosit infiltrasyonu, damarlarda trombozlar ve çeperlerinde kalınlaşmalar, hepatositlerde erime nekrozu ve dejenerasyonu, dalağın kas trabeküllerinde yer yer kalınlaşmalar ve miyosit, kalp kasında ödem gözlendi (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 1. (H-E. X200)

Şekil 2. Pneumonia tablosu:İnflamasyon odakları (H-E. X200)

- Bakteri kümeleri,
- Bronşların epitellerinde dökülmeler,
- Müsküler damar çaplarında kalınlaşma
- Allveollerde dejenerasyon, lenfosit infiltrasyonları ve ödem

Tartışma ve Sonuç

Kenar ve Erganiş (1994)'in, araştırmalarında, izole ettikleri *Campylobacter* suşlarının tümünün aktif hareketli, çoğunlukla virgül, spiral veya S şeklinde olduğu ve araştırmalarında *C. jejuni* suşlarının daha küçük virgül şeklinde olduğu bu olguda izole edilen suşunda benzer şekilde daha çok virgül şeklinde olduğu diğer spesifik formlarının ise daha az sayıda olduğu belirlenmiştir. Bu olguda izole edilen *C. jejuni* koloni yapısı ile Diker (1985)'in yapmış olduğu araştırmada benzer koloni morfolojisi gözlenmiştir. Bu çalışmada identifiye edilen bir adet *C. jejuni* suşu, hippurat hidroliz testinde pozitif sonuç verirken Patton ve Nicholson (1991) *C. jejuni* suşlarının %97.2'sinin hippurat hidroliz özelliği gösterdiğini, Diker (1985) 193 *C. jejuni* suşunun %83.9'unun hippurat hidroliz özelliği gösterdiğini, diğer *Campylobacter* türlerinin bu özelliği göstermediği bildirmiştir. Bancroft ve Cook (1984), yapmış oldukları çalışmada jejunumun lamina propriyasında akut yangısal infiltrasyonların şekillendiğini ve küçük (kılcal) damarlarda ise trombozlara rastlandığını bildirmişlerdir. Araştırmacının bulguları bu olgunun bulguları ile örtüşmektedir.

Sonuç olarak bu olguda Türkiye'de ilk defa yeni doğan yedi günlük bir buzağıda *Campylobacteriosis* olgusu bildirilmiş ve hem bakteriyolojik hem de patolojik bulguları literatürler ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

Kaynaklar

- Açık MN, 2006: Sığır ve koyun orijinli *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli*'nin moleküler tiplendirilmesi. Doktora tezi, FÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Anonim, 1996: Bovine Genital *Campylobacteriosis*. Office International des Epizooties Manuel. 256-266.
- Bancroft JD, Cook HC, 1984: Manual of Histological Techniques, New York, USA.
- Broman T, Palmgren H, Bersröm S, Sellin M, Waldeström J, Danielsson-Tham ML & Olsen B, 2002: *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*) : Prevalence, genotypes and influence on *Campylobacter jejuni* epidemiology. *J. Clin Microbiol*, 40, 4594-4602.
- Diker KS, 1985: Koyun ve sığırlardan izole edilen *Campylobacter* türlerinin identifikasyonu üzerinde çalışmalar. *Dođa Bilim Derg*, 9(3): 232-240.
- Diker KS, İstanbulluoğlu E, 1995: Sağlıklı ve sürgünlü hayvanlarda *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* izolasyonu üzerinde çalışmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg*, 30, 28-32.
- Fox JG, Post DE, Colin P, Ackerman JI, 1983: *Campylobacter jejuni*-associated diarrhea in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 183, 1430-1433.

- Friedman CR, Neimann J, Wegener HC, Tauxe V, 2000 : *Campylobacter*, 2nd ed., ASM Press, Washington DC, USA, 121-138.
- Harvey SM, 1980: Hippurat Hidrolysis by *Campylobacter fetus*. *J. Clin Microbiol*, 11: 435-437.
- Kenar B, Erganiş O, 1994: Orta Karadeniz Bölgesi atık yapan koyunlarda *Campylobacter* türleri izole edilmesi ve antibiyotik duyarlılığının tesbiti. *Veterinarium*, 5(1-2): 4-12.
- Lastovica AJ, Skirrow MB, 2000 : Clinical significance of *Campylobacter* and related species other than *Campylobacter*. 2nd ed., ASM Press, Washington DC, USA.
- Luna LG, 1968: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology .3rd ed., McGraw-Hill Book Company, New York, USA, 38-220.
- Mc Fadyean F, Stockman S, 1913: Report of the Departmental Committee appointed by the Board Agriculture and Fisheries to inquire into epizootic abortion. Ed; Rhoades HE, Appendix to Part 2: Abortion in Sheep. London, England.
- Moore JE, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Lucey B, Matsuda M, McDowel DA, Megraud F, Millar BC, O'Mahony R, O'Riordan, O'Rourke M, Rao JR, Rooney PJ, Sails A, Whyte P, 2005: *Campylobacter*. *Veterinary Research*, 36,351-382.
- Newel DG, Duim B, van Bergen MAP, Grogono-Thomas R, Wagenaar JA, 2000: Specification, subspeciation and subtyping of *Campylobacter fetus* associated with infertility within the UK. *Cattle Practice*, 8, 421-425.
- Patton CM, Nicholson MA, 1991: Evaluation of Disk Method for Hippurate Hydrolysis by *Campylobacter* species. *J. Clin. Microbiol*, 33(5), 1341-1343.
- Skirrow MB, Benjamin J, 1980: "1001" *Campylobacter* : Cultural characteristics of intestinal *Campylobacter* from men and animals. *J. Hyg*, 85:427-429.
- Skirrow MB, Blaser MJ, 2000: Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In: *Campylobacter*. 2nd ed., ASM Press, Washington DC, USA.
- Tauxe RV, 1992: Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: *Campylobacter jejuni*: current state and future trends, Ed; Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS, ASM Press, Washington DC, USA.
- Torre E, 1993: Factors influencing shedding of *Campylobacter jejuni* in dogs without diarrhea. *Am. J. Vet. Res*, 54, 260-262.
- Waldeström J, Broman T, Carlsson I, Hasselquist D, Archerberg RP, Wagenaar JA, Olsen B, 2002: Prevalence *Campylobacter jejuni*, *C. lari* and *C. coli* in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Appl. Environ. Microbiol*, 68, 5911-5917.

**Bu Olgu VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi'nde Poster Olarak Sunulmuştur.

*Yazışma Adresi: Serap Kılıç Altun
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: vetserapaltun@hotmail.com