

## KOYUNLARDA CAMPYLOBACTER TAŞIYICILIĞI VE SERUM ANTİKOR DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ\*

### THE RELATIONSHIP BETWEEN CAMPYLOBACTER COLONIZATION AND SERUM ANTIBODY LEVELS IN SHEEP

Nahit YAZICIOĞLU\*

Kabul Tarihi: 30.11.2000

#### ÖZET

Bu çalışmada, mezbahada kesilen koyunların safra keselerinde *Campylobacter* türlerinin ve serumlarında anti-*Campylobacter* antikorlarının sıklığı incelendi. Dokuz farklı orijinden gelen 180 koyunun % 52.8'inin safra keselerinden *Campylobacter*'ler izole edildi. İzolasyon oranları, 7-8 aylık koyunlarda % 33.3, 2-3 yaşlı koyunlarda % 59.3 olarak belirlendi. İzole edilen 95 *Campylobacter* suşunun, 66'sı *C. fetus subsp. fetus*, 22'si *C. jejuni* ve 7'si *C. coli* olarak identifiye edildi.

Komplement fikzasyon testinde, 180 koyunun % 36.7'si 1:4'ten 1:32'ye kadar değişen titrelerde *C. fetus subsp. fetus* antijenine karşı pozitif reaksiyon verdi. Kuzuların % 22.2'sinde, erişkin koyunların % 41.5'inde seropozitiflik saptandı. Kuzu serumlarının çoğu 1:4 titrede pozitif bulunurken, pozitif erişkin koyun serumları 1:4-1:32 titreler arasında nisbeten dengeli dağılım gösterdi. *C. fetus subsp. fetus* izole edilen koyunların çoğu (% 84.4) aynı zamanda seropozitif bulunurken, *C. jejuni/coli* izole edilen koyunların sadece % 17.2'si seropozitif bulundu. Bu durum iki *Campylobacter* grubu arasında düşük düzeyde antijenik ilişki olduğunu gösterdi.

Bu bulgular, *Campylobacter*'lerin özellikle erişkin koyunların safra keselerinde yaygın olduğunu ve asemptomatik *Campylobacter* taşıyıcılığının önemli düzeyde antikor üretimine neden olabileceğini gösterdi. Ayrıca, halen kullanılan pozitiflik kriterleri ile komplement fikzasyon testinin, asemptomatik taşıyıcıları ve abort yapan koyunları ayıramayacağı belirlendi.

Sonuç olarak, abortif *Campylobacter* infeksiyonlarının teşhisi için kullanılan komplement fikzasyon testinin pozitiflik kriterleri ve antijen spektrumunun tekrar gözden geçirilmesi gerektiği kamsına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Koyun, *Campylobacter*, safra kesesi, izolasyon, seroloji.

#### SUMMARY

In this study, the prevalence of *Campylobacter spp.* in the gallbladder and anti-*Campylobacter* antibodies in the sera of slaughtered sheep were investigated. *Campylobacter*s were isolated from 52.8 % of gallbladders of 180 sheep from nine different origins. Isolation rates were determined as 33.3 % in 7-8 months old sheep, and 59.3 % in 2-3 years old ones. Out of 95 *Campylobacter* strains isolated, 66 were identified as *C. fetus subsp. fetus*, 22 as *C. jejuni* and 7 as *C. coli*.

\* Aynı isimli Doktora tezinden özetlenmiştir.

\*\* Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Etlik - ANKARA.

In complement fixation test, 36.7 % of sera from 180 sheep gave positive reactions against *C. fetus subsp. fetus* antigen. Seropositivity was detected in 22.2 % of lambs, and 41.5 % of older sheep. The most of the sera from lambs were found positive at 1:4 titer, whereas the positive sera from mature sheep showed a relatively homogenous distribution with titers from 1:4 to 1:32. The most (84.8 %) of sheep from which *C. fetus subsp. fetus* was isolated were also found as seropositive. Only 17.2 % of sheep from which *C. jejuni/coli* was isolated, were found as seropositive, indicating the low level of antigenic relationship between these two groups of campylobacters.

These findings showed that campylobacters were common in the gallbladder of sheep, particularly in older ones and asymptomatic carriage of campylobacters could cause antibody production in a considerable level. It was also determined that complement fixation test with currently used criteria was inadequate to differentiate the asymptotically infected and aborted sheep.

It was concluded that the diagnostic criteria and antigen spectrum of complement fixation test to detect abortive Campylobacter infection should be reevaluated.

**Key Words:** Sheep, Campylobacter, gall bladder, isolation, serology.

## 1. GİRİŞ

Campylobacter'ler, hayvanların sindirim kanalında komensal olarak bulunabilen ve uygun koşullarda hayvanlarda abortus, gastroenteritis ve septisemiye neden olabilen mikroorganizmalardır. Farklı Campylobacter türleri, bu genel hastalık başlıkları dışında, sporadik vakalar halinde birçok farklı hastalık tablosundan da izole edilmişlerdir (Tablo 1.1). Etkenler, ayrıca insanlarda da yukarıda belirtilen infeksiyonlara neden olmakta ve önemli zoonozlar arasında kabul edilmektedirler (41).

Taksonomik ve filogenetik çalışmalar sonucunda, Campylobacter grubu içinden Helicobacter ve Arcobacter olmak üzere iki yeni cins ayrılmış ve rRNA süperfamilya VI içinde, Campylobacter ve Arcobacter genusunu kapsayan Campylobacteriaceae familyası oluşturulmuştur (45). Campylobacter türlerinin eski ve yeni adları Tablo 1.2 de verilmiştir.

Campylobacter genusuna bağlı mikroorganizmalar Gram negatif, helical-spiral şekilli bakterilerdir. Monopolar veya bipolar flagellaları ile aktif harekete sahiptirler. Türlerin çoğunluğu %5 oksijen, %10 karbondioksit ve %85 azot içeren mikroaerobik atmosferde ürerler. Optimal üreme ısıları türlere göre farklılık gösterir ve 25-43 °C arasındadır.

Campylobacter türleri katı besiyerleri üzerinde, besiyerinin içeriği ve nem oranına bağlı olarak değişik koloni formları gösterirler (18). *C.fetus* suşları "smooth" koloni oluştururken, diğer Campylobacter türleri nemli besiyerlerinde "swarming" koloni formunda ürerler. Campylobacter suşlarının çoğunluğu L-aspartat, L-glutamat, L-sistein amino asitleri, asetat ve niasin içeren ortamlarda üreyebilirler (42). Ayrıca, vitamin, nükleik asit, redüktan ajanlar, metaller (Mg, Mn, Fe), beta-östradiol, hematin ve katalazın üremeyi artırdıkları saptanmıştır (26).

Campylobacter'ler, karbohidratları katabolize edemeyen ve gerekli enerjiyi trikarboksilik asit siklusundan sağlayan sınırlı bir respiratorik metabolizmaya sahiptirler. Mikroaerobik ortamda üreyen suşlar format, süksinat ve DL-laktat varlığında oksijeni kullanırlar. Campylobacter suşlarının çoğu bipolar flagellaya sahiptir. Kılıfsız olan flagellanın çapı ortalama 18-20 nm, boyu ise hücrenin 2-3 katıdır. Flagellin adı verilen 62 kilodalton (kD) ağırlığındaki flagella proteininin yapısında sistein dışındaki tüm amino asitler saptanmıştır (42).

Campylobacterleri üretmek için, Brucella Agar, Blood Agar Base No:2, Columbia Agar, Thioglycolate Medium ve Campylobacter Agar

**Tablo 1.1: Campylobacter'lerin yerleştiği hayvan türleri ve oluşturdukları infeksiyonlar.**

Campylobacter türü	Canlı türü	Oluşturduğu infeksiyon
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Koyun	Epizootik abortus, barsak ve safra kesesi komensali
	Sığır	Sporadik abortus, barsak ve safra kesesi komensali
	At, Keçi	Sporadik abortus
	İnsan	Sporadik abortus, septisemi
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	Sığır	Veneral infeksiyon, infertilite, sporadik abortus
<i>C. jejuni, C. coli, C. lari</i>	Koyun	Epizootik abortus, kuzularda besi ishali, barsak komensali
	Sığır	Sporadik abortus, buzağı ishali, mastitis, barsak komensali
	Köpek, Kedi	Gastroenterit, sporadik abortus, barsak komensali
	At	Enterit, septisemi
	Tavuk	Civciv ishali, vibrionik hepatit, barsak ve safra komensali
	İnsan	Gastroenterit, septisemi, Gullian-Barre Sendromu ilişkisi
	Diğer	Sporadik abortus, enteritis, barsak komensali
<i>C. upsaliensis</i>	Köpek, Kedi	Gastroenterit, septisemi, barsak komensali
	İnsan	Gastroenterit, septisemi
<i>C. helveticus</i>	Köpek, Kedi	Gastroenterit, septisemi, barsak komensali
<i>C. sputorum subsp. bubulus</i>	Sığır	Boğa prepusyumunda komensal
<i>C. sputorum subsp. fecalis</i>	Sığır	Enteritis, barsak komensali
	Koyun	
<i>C. sputorum subsp. sputorum</i>	İnsan	Ağız boşluğu komensali
<i>C. hyointestinalis</i>	Domuz	Proliferatif enterit ve ileit
	Sığır	Enterit, barsak komensali
	İnsan	Enterit
<i>C. hyoilei</i>	Domuz	Proliferatif enterit ve ileit
<i>C. mucosalis</i>	Domuz	Proliferatif enterit ve ileit
<i>C. concisus</i>	İnsan	Periodontit
<i>C. showae</i>	İnsan	Periodontit
<i>C. curvus</i>	İnsan	Periodontit
<i>C. rectus</i>	İnsan	Periodontit

**Tablo 1.2 : Campylobacter türlerinin eski ve yeni adlandırılmaları**

Geçerli Adlar	Eski Adlar
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Vibrio fetus, V. fetus var. intestinalis, C. fetus subsp. intestinalis.
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	V. fetus, V. fetus var. fetus, C. fetus subsp. fetus
<i>C. jejuni</i>	V. fetus, V. jejuni, V. fetus var. intestinalis, C. fetus subsp. jejuni
<i>C. Coli</i>	V. coli, C. fetus subsp. jejuni
<i>C. lari</i>	Nalidiksik asit rezistans Campylobacter (NARTC), C. laridis
<i>C. upsaliensis</i>	Katalaz negatif, zayıf Campylobacter (CNV) grubu
<i>C. helveticus</i>	İlk ismi
<i>C. sputorum subsp. bubulus</i>	V. sputorum subsp. bubulus
<i>C. sputorum subsp. fecalis</i>	Vibrio fecalis, C. fecalis
<i>C. sputorum subsp. sputorum</i>	Vibrio sputorum subsp. sputorum
<i>C. mucosalis</i>	Vibrio sputorum subsp. mucosalis
<i>C. hyointestinalis</i>	İlk ismi
<i>C. hyoilei</i>	İlk ismi
<i>C. concisus</i>	İlk ismi
<i>C. showae</i>	İlk ismi
<i>C. rectus</i>	Wolinella recta
<i>C. curvus</i>	Wolinella curva

Base gibi temel besiyerleri kullanılmaktadır (13). İlk izolasyonlarda besi yerlerine %5- 10 defibrine koyun yada at kanı ilavesinin üremeyi artırdığı bildirilmiştir.

Campylobacter türlerinin identifikasyonunda, oksidaz testi, değişik ısılarda üreme, bazı kimyasal maddelere tolerans ve çeşitli biyokimyasal testlerden faydalanılmaktadır (16, 40). Campylobacterler metabolizmalarında karbonhidratları kullanmadıklarından, türlerin ayırımında karbonhidrat testlerinin önemi yoktur. Son yıllara kadar katalaz testi Campylobacterler için patojenite kriteri olarak kabul ediliyordu. Ancak yapılan araştırmalarla, *C. mucosalis* ve *C. upsaliensis*'in katalaz negatif olduğu ve hayvanlarda infeksiyonlara sebep olduğu tespit edilmiştir (8,41).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar Türkiye'de Campylobacter infeksiyonlarının koyun abortuslarının, Brucella infeksiyonlarından sonra en önemli nedeni olduğunu göstermektedir (1, 32). Türkiye'de atık koyun fetusları üzerinde yapılan bakteriyolojik incelemelerde *C.fetus subsp.fetus*, *C.jejuni* ve *C.coli*'den ileri gelen vakaların varlığı saptanmıştır (13, 17, 21). Bugüne kadar yapılan bakteriyolojik incelemelerde atık koyun fetuslarından %1.2-12 (1,13,51) oranında Campylobacter suşu izole edildiği bildirilmiştir. Ancak, etkenlerin nazlı üreme özellikleri ve oksijene duyarlılıkları nedeniyle bakteriyolojik inceleme sonuçları gerçek prevalansı göstermemektedir. Koyunların Campylobacter infeksiyonlarının oranı enzootik abortus yapan sürülerdeki serolojik taramalar ile de belirlenmiştir. Türkiye'de atık

yapmış koyunlar üzerinde komplement fiksasyon testi ile yapılan serolojik incelemelerde infeksiyon oranı %13.8-32.7 arasında belirlenmiştir (1,52,32).

Özellikle Brucellosis problemi çözümlenmiş gelişmiş ülkelerde Campylobacteriosis koyun abortuslarının en önemli nedeni olarak gösterilmektedir (5). Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda Campylobacter kökenli koyun abortuslarında atık etkeni olarak *C. fetus subsp.fetus*, *C. jejuni* ve *C. coli* izole edilmiştir (46,47). Amerika ve İngiltere'de yapılan bazı çalışmalarda *C. jejuni/coli*'nin oranı *C.fetus subsp.fetus*'a göre daha yüksek bulunmuştur (3,47,49). Diğer ülkelerde ise *C. fetus subsp. fetus*, *C. jejuni*'ye göre daha yüksek oranda bulunmuştur (9, 46). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise daha çok *C. fetus subsp. fetus* saptanırken, *C. jejuni* ve *C. coli* vakalar halinde bildirilmiştir (1,17, 21).

Koyunların Campylobacter infeksiyonları gerek epidemiyolojik ve gerekse patogenezis açısından kendine has özelliklere sahiptir. Öncelikle, Campylobacter'lerin, sağlıklı hayvanların sindirim kanalında da bulunabilmesi, diğer abortus etkenleri arasında çok rastlanmayan bir durumdur. Birçok hayvan türünde olduğu gibi, Campylobacter'ler hiçbir klinik belirti göstermeyen koyunların barsak ve safra keselerinde yüksek oranda bulunabilirler (13). Campylobacter'lerin safradaki yüksek oranları aynı zamanda, safra tuzlarına karşı dirençleri ile de açıklanmaktadır (26). Türkiye'de yapılan çalışmalarda, sağlıklı koyunların safra keseleri ve barsaklarındaki Campylobacter taşıyıcılık oranları sırasıyla %57.3, ve %30 olarak saptanmıştır (13).

Gebe koyunlardaki Campylobacter infeksiyonuna bağlı abortus oranının %70'e kadar çıkabileceği bildirilmiştir (5, 26). Koyunların infeksiyona duyarlı olduğu dönem gebeliğin yaklaşık son üç aylık periyodudur (25). Deneysel yolla enfekte edilen gebe koyunlarda 8-60 gün arasında (29), doğal koşullarda ise 7-25 gün arasında bir inkubasyon periyodu belirlenmiş ve virulensi yüksek suşların daha kısa inkubasyon periyoduna sahip oldukları bildirilmiştir (25, 26). İnfekte sürülerdeki

abortuslar genellikle gebeliğin son 6 haftasında ortaya çıkmaktadır. Gebeliğin son döneminde ortaya çıkan infeksiyonlarda prematüre ve canlı kuzu doğumu görülebilmektedir (17, 21). Ancak zayıf ve güçsüz olan bu infekte kuzularda neonatal ölüm oranı çok yüksektir. İnfeksiyon gebe koyunlarda abortus öncesi hafif bir vaginal akıntı dışında genellikle klinik belirtilere yol açmaz, ancak bazı araştırmacılar infekte gebe koyunların bir kısmında abortus öncesi ve sonrası dönemlerde ishal ve septisemik belirtiler izlediklerini bildirmişlerdir (4, 25).

Koyunların Campylobacter infeksiyonlarının bulaşma yolları üzerinde yapılan çalışmalarda başlıca yolun oral bulaşma olduğu belirlenmiştir (24,30). Deneysel çalışmalarda, oral inokulasyon sonunda yüksek oranda abortus olduğu bildirilmiştir (29). Doğal koşullarda ise oral yolla bulaşmanın, kontamine su, yem ve meralardan kaynaklandığına inanılmaktadır (4,30). Koçların, genital kanallarında etkene rastlanmamış ve infeksiyonun bulaşmasında herhangi bir rolleri olmadığı belirlenmiştir (4,30). Ayrıca, diğer olası doğal bulaşma yollarının denendiği deneysel çalışmalardan da negatif sonuçlar alınmıştır (34). Koyun Campylobacter infeksiyonlarının bu özelliği, veneral yolla bulaşan sığır Campylobacteriosis'ine tamamen zıttır (26).

İnfeksiyonun bulaşmasına neden olan su,yem ve mera gibi kaynakları kontamine eden çeşitli faktörler belirlenmiştir. Abort yapan veya yapacak koyunların vaginal akıntılarını çevreyi bulaştıran en önemli faktörlerin başında gelmektedir (5). Ayrıca, koyunların bir kısmının safralarında yüksek oranda Campylobacter taşıdıkları ve dışkıları ile yüksek oranda etken çıkardıkları belirlenmiştir ve bu durum infeksiyonun patogenezisinde önemli bir role sahiptir (7,10,16). İshalli koyun ve kuzuların barsaklarında da yüksek oranda Campylobacter taşıyıcılığı belirlenmiştir (16). Ayrıca, bu suşların, koyunlarda atıklara neden olan Campylobacter suşları ile aynı antijenik yapıya ve eşit düzeyde virulense sahip oldukları bulunmuştur (6,23). Böyle hayvanların Campylobacter içeren dışkıları, doğal ko-

şullarda etkenle ilk kez karşılaşan koyunlar için önemli bir bulaşma kaynağıdır.

Koyunların *Campylobacter* infeksiyonunda görülen abortusun patogenezi doğal vakaların ve deneysel infeksiyonun izlenmesi sonucu belirlenmiştir (4, 29,30, 37). Ağız yoluyla alındıktan sonra barsağa ulaşan mikroorganizma barsağı geçerek kan dolaşımına katılır. Kanda 14 güne kadar kalabilen etken, bu bakteriyemi periyodu sırasında uterus ve maternal plasentaya yerleşerek yangısal değişiklikler oluşturur. İnfeksiyon fetal plasentaya ulaştıktan sonra kotiledoner villilerin korionik epitelinden fetal dolaşıma yayılır ve fetal bakteriyemi abortus ile sonuçlanır. Abortusa neden olan *Campylobacter* suşları tüm fetal dokularda, plasentada, kotiledonlarda ve vaginal akıntılarda belirlenebilir. Deneysel çalışmalarda, koyunlarda vaskulitis ile karakterize bir purulent endometritis ve plasentalarda nekroz ve purulent yangı bulunmuştur (29). Gerek doğal gerekse deneysel abortus vakalarının bazılarında atık fötusların karaciğerlerinde multifokal nekrozis gözlenmiştir (5,29).

Doğal *Campylobacter* infeksiyonlarına karşı koyunlarda etkili bir immün yanıtın ortaya çıktığı belirlenmiştir. Saha gözlemleri ve deneysel çalışmalar, abort yapan koyunların bir sonraki gebelikte homolog serotip ile infeksiyona karşı bağışık olduklarını ortaya koymuştur (30,35). Bu bağışıklığın bazı koyunlarda üç yıla kadar uzayabildiği ileri sürülmüştür (25). İnfeksiyonu geçiren koyunların reproduktif yeteneklerinin de normal olduğu belirlenmiştir (48).

Koyun *Campylobacter* infeksiyonlarında gelişen bağışıklık humoral düzeydedir, diğer bir ifade ile antikorlar vasıtasıyla sağlanmaktadır. Bu antikorların tesbiti de, hayvanların *Campylobacter* ile daha önceki temasları hakkında fikir vermektedir. Gerek doğal infeksiyonlardaki bağışıklık durumunu, gerekse deneysel infeksiyonlardaki ve aşılama sonrasındaki bağışıklık düzeyini kontrol etmek için çeşitli serolojik testler kullanılmıştır.

Atık yapan koyunlarda *Campylobacter* infeksiyonlarının teşhisi için en çok başvuru-

lan serolojik testlerden birisi komplement fikzasyon testidir (1). Bu test özellikle abortus sonrası incelenen kan serumlarında infeksiyonun teşhisine yardımcı olurken, saha taramalarındaki geçerliliği hakkında bir bilgi yoktur. Son yıllarda geliştirilen ELISA tekniği de çeşitli araştırmacılar tarafından *Campylobacter* antikorlarının tesbiti amacıyla kullanılmıştır (27,50). Bu testlerden başka, immüno floresan tekniği ve indirekt hemaglutinasyon testleri de çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiş olmasına rağmen, pratikte yaygın olarak kullanılmamaktadırlar (2, 22).

Koyunların *Campylobacter* infeksiyonlarına karşı yapay aktif bir bağışıklık yoluyla koruma sağlamak için 1960'lı yılların başından itibaren çeşitli aşı çalışmaları yapılmıştır. Bu alanda ilk çalışmaları yapan araştırmacılardan Miller ve Jensen (36), koyunlara koç katımından önce canlı *C.fetus* kültürü veya formalinle öldürülmüş *C.fetus*'u iki doz halinde uygulamışlar ve canlı aşıyla tam koruma sağladıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca tek adjuvanlı aşı uygulanan koyunların hiçbirinin atık yapmadığı belirlenmiştir. Miller ve ark.(38), serotip V ve serotip I ile aşılamanın (bugünkü sınıflamaya göre *C.fetus subsp.fetus ve C.jejuni*) koyunları çapraz suşla deneysel infeksiyona karşı korumadığını, aynı suşlardan hazırlanan kombine aşının ise her iki suşa karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir.

Storz ve ark. (43), alüminyum adjuvanlı bir aşının koruma süresini saptamak için yaptıkları çalışmada, aşı uygulamasından 5 ay sonra koyunların tümünün, 17 ve 29 ay sonra %83'ünün ve 41 ay sonra %75'inin bağışık olduğunu ileri sürmüşlerdir. Sürüye yeni katılan aşıli koyunların sürü bağışıklığı üzerindeki etkisi 5 yıl boyunca incelenmiş ve bu uygulama ile daha önce *Campylobacter* kökenli abortlar görülen sürülerde atık olaylarının izlenmediği bildirilmiştir.

Myers ve ark. (39) da, *C.fetus* tüm hücre antijenleri ve üç tip hücre fraksiyonu ile aşıladıkları koyunların infeksiyondan korunduklarını belirlemişlerdir.

Thompson ve Gilmour (44), üç farklı serotipten hazırlanan parçalanmış, formalinli ve adjuvanlı aşuların oluşturdukları bağışıklık düzeyini serolojik düzeyde incelemiştir. Araştırmada, monovalan aşuların sadece kendi serotipine karşı yüksek titrede antikor oluşturduğunu, fakat trivalan aşının her üç serotipe karşı antikor oluşumuna neden olduğunu gözlemiştir.

Williams ve ark. (49), dört çeşit monovalan ve iki çeşit bivalan aşı ile koyunlarda yaptıkları çalışmalarda, bivalan aşuların tüm epürasyon suşlarına karşı daha yüksek oranda koruma sağladığını saptamışlardır. Keisler ve ark. (31), Chlamydia, *C.fetus* ve *C.jejuni* içeren iki ticari aşının koyunlarda oluşturdukları antikor titrelerini ELISA yöntemi ile araştırmışlar ve aşuların *Campylobacter*'lere karşı antikor titrelerini yükseltmesine karşın bunun kısa süreli olduğunu belirtmişlerdir. Hansen ve ark. (28), bir önceki yıl Chlamydia, *C.fetus* ve *C.jejuni* kökenli abortların görüldüğü bir sürüye aynı etkenleri içeren kombine bir aşı uygulamışlar ve aşısız grupta aynı etkenlerden ileri gelen abortların izlendiğini ancak aşı grubunda aşının %80 etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Son yıllarda *Campylobacter*'ler üzerinde yapılan çalışmalar, konu üzerindeki bilgilere yeni boyutlar eklemiştir. Örneğin, *Campylobacter* türlerinin, normal koyunların sindirim kanalında da sıkça bulunması, serum antikorlarının hastalıktan mı kaynaklandığı sorunu akla getirmektedir. Bunun sonucunda, serolojik teşhis için saptanan antikor düzeyleri ve serolojik yöntemlerde kullanılan kriterlerin yeniden gözden geçirilmesi gereği ortaya çıkmıştır. Çünkü, bugüne kadar yapılan çalışmalarda, etkenin sindirim kanalında bulunmasının, serum antikor düzeyleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığı açıklık kazanmamıştır. Ayrıca, koyun abortuslarından *C.fetus subsp.fetus* yanında, *C.jejuni* ve *C.coli* gibi türlerin de izole edilmiş olması, *C.fetus subsp.fetus*'a yönelik serolojik teşhis kriterlerinin, diğer türlerden kaynaklanan antikorları ne düzeyde saptayabildiğini de düşündürmektedir.

Yukarıda açıklanan nedenlerle, bu çalışma gerek dünya literatüründeki yeri ve gerekse sahada uygulanacak bilgiler sağlaması açısından orijinal nitelik taşımaktadır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Materyallerin toplanması

*Campylobacter* izolasyonunda ve komplement fikzasyon testinde kullanılan örnekler, Ankara Et ve Balık Kurumu mezbahasına Polatlı, Haymana, Kars, Elmadağ, Antalya, Kırşehir, Bala ve Gölbaşı yörelerinden kesim amacıyla getirilen 180 adet koyundan alındı. 180'er örneğin alındığı koyunlar toplam 1425 koyun içinden rasgele seçildi. Kesilen koyun sayısı 150'den az olan partilerden 15, 150'den fazla olan partilerden 30'ar örnek alındı. Kesim anında önce koyunların kanı alındı ve daha sonra iç organların çıkarılması anında safra keseleri alındı. Aynı koyuna ait kan serumu ve safra kesesine aynı numara verildi ve örnekler en geç 4 saat içinde işlendi. Kan serumları çıkarılarak -20 °C de saklandı.

### 2.2. *Campylobacter*lerin izolasyonu

Mezbahadan kesim anında alınan koyun safra keseleri sterilite kontrolleri yapılmış Skirrow selektif besi yerlerine 4 saat içinde ekildi. İnokulum safra kesesi mukozası steril eküvyonlar ile kazınarak alındı. Ekimi yapılan petri katalizörsüz anaerobik jarlara yerleştirildi ve mikroaerobik ortamı sağlamak için Gas-Pak (Oxoid) kitleri kullanıldı. Jarlar 37 °C de 2-3 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. İn-kübasyon süresi sonunda üreme görülen petri katalizörsüz anaerobik jarlardaki kolonilerin makroskopik ve mikroskopik morfolojik özellikleri incelendi. Tipik *Campylobacter* kolonileri tespit edilerek işaretlendi ve Gram yöntemi ile boyandı. Karakteristik virgül, martı kanadı ve "S" şekilli ve Gram-negatif mikroorganizmalar gliserinli Brucella buyyona alınarak identifikasyonları yapılmak üzere -70 °C saklandı.

### 2.3. Campylobacter türlerinin identifikasyonu

Campylobacterlerin identifikasyonu amacıyla Oksidaz, Katalaz, H<sub>2</sub>S oluşumu ve Hippurat hidrolizi testleri gibi biyokimyasal testler, çeşitli ısılarda üreme özellikleri ve Tuz tolerans, Glisin tolerans testi, ve Nalidiksik asit ve cephalotin duyarlılık testleri yapılmıştır (20).

Komplement fikzasyon testinde fenol ile ekstrakte edilen *C.fetus subsp fetus* antijeni kullanıldı. Taze komplement kobay serumlarından elde edildi. Tavşanlarda amboseptör üretimi için %4 koyun eritrositi kullanıldı. Hazırlanan ayraçlarla antijen, amboseptör ve komplementin titreleri belirlendi.

### 2.4. Komplement fikzasyon testinin yapılışı:

Berrak, hemolize ve kontamine olmayan serumlar 56 °C de 30 dakika süre ile inaktive edildi. İnaktivasyondan sonra serumlar veronal buffer ile 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranında sulandırıldı. Her dilüsyondan tüplere 0.2 ml konuldu. Kontrol hariç olmak üzere tüm tüplere 0.1 ml antijen ilave edildi. Daha sonra tüm tüplere 1/10'lük komplementten 0.25 ml eklendi. Sonra bu karışım üzerine 0.35 ml NaCl konularak 37 °C de 30 dakika benmaride tutuldu. Sonra tüm tüplere 0.2 ml amboseptör ilave edildi. % 4'lük koyun eritrositi solüsyonundan 0.2 ml ilave edildikten sonra 37 °C de ikinci bir benmari işlemi yapıldı. Erime görülmeyen tüpler pozitif görülenler ise negatif olarak değerlendirildi. 1/4 ve üstünde reaksiyon görülen serumlar pozitif olarak kabul edildi.

## 3. BULGULAR

### 3.1. Campylobacter izolasyon oranları:

Et ve Balık Kurumu Ankara mezbahasından temin edilen 180 koyun safra kesesinden 95 (% 52.8) adet *Campylobacter spp.* izole edildi. Bunun yanında 85 (% 47.2) adet safra kesesinden Campylobacter izolasyonu yapılamadı. En düşük izolasyon oranları 1 yaşından

küçük koyunlardan elde edildi. Bir yaşından küçük 45 koyun safra kesesinden 15 (% 33.3) Campylobacter izole edildi. 2-3 yaş grubu 135 koyun safra kesesinden ise 80 (% 59.3) Campylobacter izole edildi.

### 3.2. İdentifiye edilen Campylobacter türleri:

İdentifikasyon çalışmalarının sonucunda 95 Campylobacter suşunun 66'sı (% 69.5) *C. fetus subsp. fetus*, 22'si (% 23.1) *C. jejuni*, 7'si (% 7.4) *C. coli* olarak identifiye edildi.

İzole edilen *C. fetus subsp. fetus*, *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının tamamı hareketli, oksidaz ve katalaz pozitif, % 1 glisine toleranslı bulunurken hiçbiri % 3.5 tuz içeren ortamda ve aerobik koşullarda üremedi. *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının tamamı hidrojen sülfür (kağıt şerit) pozitif, *C. fetus subsp. fetus* suşlarının ise hepsi hidrojen sülfür negatif bulundu.

*C. fetus subsp. fetus* suşlarının tümü 25 °C'de ürerken 42 °C'de üremedi. Nalidiksik aside toleranslı, cephalothine duyarlı ve hippurat negatif bulundu. *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının hepsi 42 °C'de üredi, cephalothine toleranslı, nalidiksik aside duyarlı bulundu ve hiçbiri 25 °C'de üremedi. Tüm *C. jejuni* suşları hippurat pozitif, *C. coli* suşları ise hippurat negatif bulundu.

İzole edilen Campylobacter türlerinin tamamı Gram-negatif, virgül, spiral ve "S" şeklinde aktif hareketli bulundular. *C. fetus subsp. fetus* suşları birden fazla kıvrımlı uzun spiraller halinde olup zaman zaman uzun zincirler oluşturdukları gözlemlendi. *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarının daha küçük virgül şeklinde oldukları, birkaç gün bekletildiklerinde kokoid formlara dönüştükleri ve pasaj yapıldıklarında üremedikleri tespit edildi. *C. fetus subsp. fetus* suşları 1-2 mm. çapında, nonhemolitik, düzgün, yuvarlak kenarlı, konveks ve gri sarımsı şeffaf koloniler oluştururken *C. jejuni* ve *C. coli* suşları ise besiyeri yüzeyine yayılan sulu, basık, hafif gri pembe renkte mukoid görümlü koloniler oluşturdukları.



**Tablo 3.1 : Komplement fikzasyon test sonuçları.**

Kaynak	Yaş Grubu	Serum Sayısı	Komplement Fiksasyon Pozitif				TOPLAM	
			1/4	1/8	1/16	1/32	(+)	(-)
Polatlı-1	7-8 ay	15	2	1	1	-	4	11
Polatlı-2	7-8 ay	15	2	1	-	-	3	12
Elmadağ	7-8 ay	15	3	-	-	-	3	12
Kars	2-3 yaş	30	5	4	-	3	12	18
Haymana	2 yaş	15	1	2	-	1	4	11
Antalya	2 yaş	30	3	3	2	6	14	16
Kırşehir	2-3 yaş	30	5	2	2	6	15	15
Bala	3 yaş	15	3	2	-	1	6	9
Gölbaşı	2 yaş	15	2	2	1	-	5	10
TOPLAM		180	26	17	6	17	66 %(36.7)	114 %(63.3)

**Tablo 3.2: Safra keselerinden izole edilen *Campylobacter* türleri ile serum komplement fikzasyon titreleri arasındaki ilişki.**

İzole Edilen Tür	İzolasyon Sayısı Sayısı	Titre				Toplam Seropozitif
		1/4	1/8	1/16	1/32	
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	66	23	14	4	15	56 (%84.8)
<i>C. jejuni</i>	22	1	1	2		4 (%18.2)
<i>C. coli</i>	7	1	-	-	-	1 (%14.3)
TOPLAM	95	25	15	6	15	61 (%64.2)
<i>Campylobacter</i> negatif	85	1	2		2	5 (%5.9)

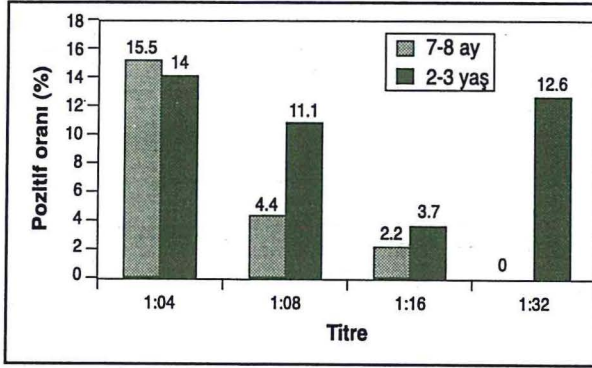
### 3.3. Komplement fikzasyon test sonuçları:

İncelenen 180 koyun kan serumunun 66 (% 36.7)'si *C. fetus* subsp. *fetus* antijeni ile komplement fikzasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Orijinlerine göre incelenen serumlarda % 20-50 pozitiflik saptandı (Tablo 3.1).

Ayrıca pozitif bulunan serumların 26'sı 1/4, 17'si 1/8, 6'sı 1/16, 17'si 1/32 dilüsyonda pozitif bulundu. Safra keselerinden *Campylobacter* izolasyonu yapılan koyunlara ait 95 kan serumunun 61'inde (% 64.2) ve *Campylobacter* izolasyonu yapılamayan 85 koyun kan serumunda 5 (% 5.9) pozitif reaksiyon gözlemlendi (Tablo 3.2).

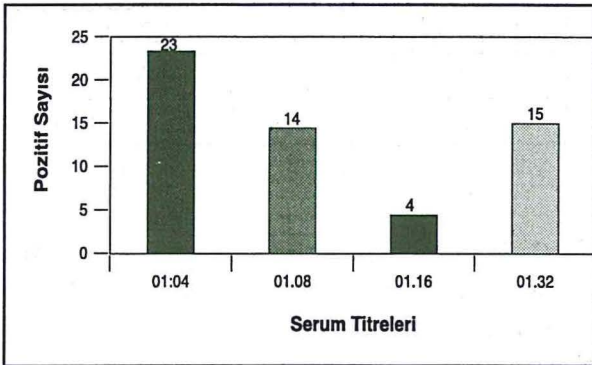
*C. fetus* subsp. *fetus* izolasyonu yapılan 66 koyuna ait kan serumlarından 56'sında (% 84.8) değişik sulandırmalarda pozitif reaksiyon gözlenirken 10 kan serumu (%15.2) negatif bulundu. *C. jejuni* izolasyonu yapılan 22 koyun kan serumunun ise 4'ü (% 18.2) seropozitif iken 18 (% 81.8) serum negatif bulundu. *C. coli* izolasyonu yapılan 7 koyuna ait kan serumlarından sadece biri (% 14.3) pozitif reaksiyon verirken 6'sı (% 85.7) negatif bulundu. *Campylobacter* izolasyonu yapılamayan 85 koyuna ait kan serumlarından 5'inde (% 5.9) değişik sulandırmalarda pozitif reaksiyon gözlenirken 80 serum (% 94.1) negatif bulundu.

Komplement fikzasyon testinde 1 yaş altı koyunlara ait pozitif serumların çoğu (% 15.5) 1/4 titrede pozitif bulundu (Grafik 3.1). Buna karşın 2-3 yaş grubu koyunlarda pozitif serum titreleri yakın dağılım gösterdi.



Grafik 3.1: Çeşitli yaş gruplarında titrasyona göre pozitiflik oranı

Komplement fikzasyon testinde *C. fetus subsp. fetus* antijeni kullanıldığı için, bulgular *C. fetus subsp. fetus* izole edilen hayvanlar bazında karşılaştırıldığında, *C. fetus subsp. fetus* izole edilen 66 koyundan 23'ü 1:4, 14'ü 1:8, 4'ü 1:16 ve 15'i 1:32 titreye sahip bulundu (Grafik 3.2).



Grafik 3.2: *C. fetus subsp. fetus* izole edilen, pozitif koyun kan serumları sayısı ve titreleri

*C. fetus subsp. fetus* izolasyonu yapılan 7-8 aylık koyunların % 83.3'ü, 2-3 yaş koyunların % 94.4'ü komplement fikzasyon testinde pozitif bulundu (Tablo 3.3). *C. fetus subsp. fetus* izolasyonu yapılmayan 7-8 aylık koyunların hiçbiri komplement fikzasyon testi ile pozitif bulunmazken, 2-3 yaş grubundaki koyunların % 9.2'i komplement fikzasyon testinde pozitif sonuç verdi.

#### 4. TARTIŞMA

*Campylobacter*ler son yıllarda üzerinde en çok çalışılan ve önemleri gittikçe artan mikroorganizmalardır. Bu bakterilere karşı ilginin artmasında en önemli faktör yeni izolasyon yöntemlerinin bulunması ve buna bağlı olarak daha önce bilinmeyen türlerin ve hastalık tablolarının ortaya çıkmasıdır. Yurdumuzda konu üzerindeki çalışmalar dünyadaki çalışmalarla paralel olarak yürütülmüş ve birçok yeni *Campylobacter* türü Türkiye'de de saptanmıştır. Örneğin, koyunlarda *C. fetus subsp. fetus* dışında *C. jejuni* ve *C. coli*'nin de abortusa neden olabildiği gösterilmiştir (17, 21). Bunun yanında sığırların ve tavukların önemli birer *Campylobacter* taşıyıcısı oldukları anlaşılmıştır (13, 14, 19). Ayrıca sığır ve tavukların etkenleri koyunlara bulaştırmada rolleri olduğu moleküler epidemiyolojik bir çalışma ile gösterilmiştir (20). Diğer ülkelerde yapılan araştırmaların sonuçları *Campylobacteriosis* görülme sıklığının çeşitli faktörlere bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Her ülkenin kendi koşullarına göre *Campylobacter* taşıma oranı farklı olacağından bunu Türkiye koşullarında elde edilen bulgular ile karşılaştırmak anlamsız bulunmuştur.

Tablo 3.3: *Campylobacter fetus subsp. fetus* izole edilen ve edilemeyen farklı yaş gruplarındaki koyunlarda komplement fikzasyon test sonuçları.

	Yaş	Toplam İzolasyon	CF (+)	CF (-)
İzolasyon (+)	7-8 ay	12	10 (% 83.3)	2(%16.7)
	2-3 yaş	54	51 (% 94.4)	3(%5.6)
İzolasyon (-)	7-8 ay	30	-	30(%100)
	2-3 yaş	55	5 (% 9.1)	50(90.9)

Ayrıca, Diker ve Yardımcı (18), izolasyon yöntemlerinin *Campylobacter* izolasyon oranı üzerindeki etkisini araştırdıkları bir çalışmada, safra kesesi duvarından yapılan ekimlerin, safra içeriğinden yapılan ekimlere göre izolasyon şansını 5-6 kat arttırdığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da aynı yöntemin kullanılması izolasyon oranının yakın bulunmasını sağlayan önemli bir faktör olabilir.

Diğer çalışmalarda, Bryner ve ark (7), koyun safralarından izolasyon oranını %16, Clark ve Monsbourgh (10) %3.3 olarak saptamışlardır. İzolasyon oranlarının bu kadar düşük olmasının gerek ekim metodu ve gerekse izolasyon yönteminden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Nitekim, Diker (13), % 57.3 olarak bulunduğu izolasyon oranını, bu araştırmacıların kullandığı yöntemle % 6.3 olarak saptamıştır.

İdentifiye edilen türler, bilinen tüm fenotipik özelliklere uyumlu bulundular (40, 45). *C. fetus subsp. fetus* suşları, 25°C'de üreme, nalidiksik aside direnç ve cephalothine duyarlılık özellikleri ile *C. jejuni* ve *C. coli* suşlarından kolaylıkla ayrıldılar. *C. jejuni* suşları ise, *C. coli* suşlarından hippurat hidroliz özelliği ile ayrıldı. Bazı araştırmacılar (45), seyrek de olsa *C. jejuni* suşlarının hippurat testinde negatif sonuç verebileceklerini ve kesin ayırımın spesifik DNA problemleri ile yapılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, bu işlem tüm dünyada çok sınırlı merkezde araştırma düzeyinde kullanılmakta ve hippurat hidrolizi halen *C. jejuni*'yi diğer *Campylobacter* türlerinden ayıran klasik fenotipik karakter olarak kabul edilmektedir (40).

Ayrıca, Diker'in çalışmasında saptanan NARTC suşu (*C. lari*), bu çalışmada bulunmamıştır. Ayrıca, Bryner ve ark. (7) ve Clark ve Monsbourgh (10)'un çalışmalarında bugünkü sınıflama kullanılmadığı için tüm suşlar *C. fetus* veya bu türün biyotipleri olarak gösterilmiştir. Literatürde, belirli *Campylobacter* türlerinin koyunlara affinitesi olduğuna dair herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Koyun safra keselerindeki *Campylobacter*'lerin tür dağılımları arasındaki farklılıkları herhangi bir nedene bağlamak mümkün olmadığı için,

farklılığın rastlantısal olduğu düşünüldü.

Koyunların *Campylobacter* infeksiyonlarının serolojik teşhisi için çeşitli yöntemler kullanılmıştır (2,22,33). Ancak, çoğu araştırma düzeyinde kalan aglütinasyon, immunofloresan, ve indirekt hemaglütinasyon gibi testler rutin teşhis amacıyla kullanılmamaktadır. Koyun *Campylobacteriosis*'inin rutin teşhisi için eskiden beri kullanılan klasik test komplement fikzasyon testidir (51). Ancak son yıllarda, ELISA'nında özellikle saha taramalarında başarı ile kullanılabileceği bildirilmiştir (27, 50). Yardımcı ve ark. (50), koyun kan serumlarında *Campylobacter* yönünden yaptıkları çalışmada, komplement fikzasyon testi ve ELISA ile paralel sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir.

Polatlı ve Elmadağ yörelerinden kesime getirilen koyunlardan alınan toplam 45 kan serumunun 10'u (% 22.2) komplement fikzasyon testinde pozitif bulunurken Kars, Haymana, Antalya, Kırşehir, Bala ve Gölbaşı yöresine ait koyunlardan alınan 135 serumun 56'sından (% 41.5) pozitif sonuç alındı. En yüksek pozitiflik oranı Kırşehir yöresine ait 2-3 yaş grubuna mensup koyun kan serumlarında (% 50) gözlenirken en düşük pozitiflik oranı (% 20) Polatlı-2 ve Elmadağ yöresine ait 7-8 aylık yaş gruplarında bulundu. Bu farklılığın, izolasyon oranlarında da belirtildiği gibi yöresel farklılıklardan çok yaş grupları arasındaki farklılıktan kaynaklandığı görülmektedir. Ayrıca, bunda sürünün klinik bir *Campylobacter* infeksiyonu geçirmiş olabileceği ihtimali de göz ardı edilmemelidir.

Yardımcı ve ark. (50), koyun kan serumlarında ELISA ile yaptıkları incelemelerde, *C. fetus subsp. fetus* ve *C. jejuni* antijenlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, *C. fetus subsp. fetus* antijeni ile yapılan ELISA'da bulunan ortalama titrenin, *C. jejuni* antijeni ile yapılan testte elde edilen ortalama titreden 3 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yurdumuzda yapılan diğer bir çalışmada da (20) bu duruma dikkat çekilmiş, *Campylobacter* türlerinin birbirine karşı koruma sağlamadığı belirtilerek *C. fetus subsp. fetus* yanında

*C. jejuni* ve *C. coli*'yi de içine alan bir aşı hazırlanması ve kullanılması tavsiye edilmiştir. Yeni Zelanda'da *Campylobacteriosis*e bağlı atıkların % 20 oranında olduğu, atıklara neden olan suşların heterojen olmasından dolayı *C. fetus subsp. fetus* suşundan hazırlanan monovalan aşının korumada yeterli olmadığı bildirilmiştir (11). Bu da araştırmada elde edilen bulguları ve yapılan yorumu destekler niteliktedir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen bulgular, koyunların safra keselerinde önemli oranda *Campylobacter* taşıdıklarını gösterdi. Safra kesesinde kolonizasyonun cinsel olgunluğa erişmeden önce başladığı ve cinsel olgunluk döneminde yüksek düzeye çıktığı belirlendi.

Serolojik test sonuçları da bunu doğruladı. Bu bulgular, asemptomatik taşıyıcılık ve bağışıklık konularına uyarlandığında, asemptomatik taşıyıcılığın, serolojik testte pozitif reaksiyona neden olabileceği anlaşıldı. Bu nedenle komplement fikzasyon testinde değerlendirme kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiği kanısına varıldı. Ayrıca, koyunları infekte edebilen *Campylobacter* türleri arasında serolojik kros reaksiyonların çok az olması veya olmaması, serolojik testlerde bu türlere ait antijenlerin birlikte kullanılması gerekliliğini gösterdi. Bunların yanında, uygun antijenler ve değerlendirme kriterleri kullanıldığında, komplement fikzasyon testinin gerek klinik *Campylobacter* infeksiyonlarının teşhisinde, gerekse saha taramalarında kullanılabileceği kanısına varıldı.

## KAYNAKLAR

1. ARDA M, BISPING W, AYDIN N, İSTANBULLUOĞLU E, AKAY Ö, İZGÜR M, KARAEER Z, DİKER S, KIRPAL G (1987). *Atiologische Untersuchungen über den Abort bei Schafen unter Besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Brucellen, Campylobacter, Salmonellen, Listerien, Leptospiren und Chlamydien*. Berl Münch Tierarztl Wschh, 100, 405-408.
2. ARDREY WB, ARMSTRONG P, MEINERSHAGEN WA, FRANK FW (1972). *Diagnosis of ovine vibriosis and enzootic abortion of ewes by immunofluorescence technique*. Am J Vet Res, 33, 2535-2538.
3. BERG RL, JUTILA JW, FIREHAMMER BD (1971). *A revised classification of Vibrio fetus*. Am J Vet Res, 32, 11-22.
4. BISWALL G, RHOADES HE, BARTO PB, MORRILL CC (1953). *Observations of an outbreak of Vibriosis in Sheep*. JAVMA, 123, 410-414.
5. BOSTWICK JL (1982). *Common abortion diseases of sheep*. California Vet, 9, 21-23.
6. BRYNER JH, ESTES PC, FOLEY JW, O'BERRY PA (1971). *Infectivity of three Vibrio fetus biotypes for gallbladder and intestines of cattle, sheep, rabbits, Guinea pigs and mice*. Am J Vet Res, 32, 465-470.
7. BRYNER JH, O'BERRY PA, ESTES PC, FOLEY JW (1972). *Studies of Vibrios from gallbladder of market sheep and cattle*. Am J Vet Res, 33, 1439-1444.
8. BURNENS AP, EATON KA, KOROLIK V (1996). *Veterinary infections with Campylobacter, Helicobacter and related organisms*. Ed. Newell DG, Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms. Plenum Press, New York. p. 277-279.
9. CLARK BL, MONSBOURGH MJ (1974). *Serological types of Vibrio fetus var. intestinalis causing ovine vibriosis in Southern Australia*. Aust Vet J, 50,16-18.
10. CLARK BL, MONSBOURGH MJ (1979). *The prevalence of Campylobacter fetus in the gallbladder of sheep*. Aust Vet J 55,42-43.
11. COLLINS DM, LISLE GW (1985). *Typing of Campylobacter fetus fetus isolated from sheep abortion in New Zealand*. N Z Vet J, 33: 52-53.
12. CORRY JEL, POST DE, COLIN P, LAISNEY MJ (1995). *Culture media for the isolation of Campylobacters*. Int J Food Microbiol, 26, 43-76.
13. DİKER KS (1985). *Koyun ve sığırlardan izole edilen Campylobacter türlerinin identifikasyonu üzerinde çalışmalar*. Doğa Bil Derg D1, 9, 232-240.
14. DİKER KS (1987). *Campylobacter türlerinin çeşitli hayvanlardan izolasyonu ve zoonotik yönlerinin değerlendirilmesi*. Mikrobiyol Bült, 21, 268-273.
15. DİKER KS (1997). *Campylobacteraceae familyası*. Ed. Arda M. ve ark.: Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, s.125-146.
16. DİKER KS, İSTANBULLUOĞLU E (1983). *Sağlıklı ve sürgünlü hayvanlardan Campylobacter fetus subsp. jejuni izolasyonu üzerinde çalışmalar*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 30, 28-34.
17. DİKER KS, İSTANBULLUOĞLU E (1986). *Ovine abortion associated with Campylobacter jejuni*. Vet Rec, 118, 307.
18. DİKER KS, YARDIMCI H (1986). *Campylobacter izolasyon yöntemlerinin karşılaştırılması ve nemin koloni morfolojisi üzerine etkisi*. Mikrobiyol Bült 20, 115-119.
19. DİKER KS, YARDIMCI H (1989). *Isolation and characterization of Campylobacter species from chickens*. Doğa Türk Vet Hayv Derg, 13, 257-264.
20. DİKER KS, TÜRÜTOĞLU H (1993). *Koyunlarda abortuslara neden olan Campylobacter enfeksiyonlarına karşı aşı geliştirme çalışmaları*. TÜBİTAK-VHAG. Proje NO. 893.
21. DİKER KS, SAHAL M, AYDIN N (1988). *Ovine abortion associated with Campylobacter coli*. Vet Rec 122, 87.

- 22. EMİROVA TS** (1985). *Indirect haemagglutination test for campylobacteriosis in sheep*. Trudy. Vses Inst Eksp Vet, 63,46-52.
- 23. FIREHAMMER BD, HAWKINS WW** (1964). *The pathogenicity of vibrio fetus isolated from ovine bile*. Cornell Vet, 54,308-314.
- 24. FRANK FW, BAILEY JW, HEITHECKER D** (1957). *Experimental oral transmission of vibrionic abortion of sheep*. JAVMA, 131,472-473.
- 25. FRANK FW, WALDHALM DG, MEINERSHAGEN WA, SCRIVNER LH** (1965). *Newer knowledge of ovine vibriosis*. JAVMA, 147,1313-1318.
- 26. GARCIA MM, EAGLESOME MD, RIGBY C** (1983). *Campylobacters important in veterinary medicine*, Vet Bull, 53, 793-818.
- 27. GROHN K, GENIGEORGIS C** (1985). *Adaptation of ELISA for the detection of Campylobacter antibodies and its application in seroepidemiological studies in sheep and cattle herds*. Acta Vet Scand, 26, 30-48.
- 28. HANSEN DE, HEDSTROM OR, SONN RJ, SNYDER SP** (1990). *Efficacy of A vaccine to prevent Clamydia or Campylobacter induced abortions in ewes*. JAVMA, 196, 731-734.
- 29. HEDSTROM OR, SONN RJ, LASSEN ED, HULTGREN BD, CRISMAN RO, SMITH BB, SNYDER SP** (1987). *Pathology of Campylobacter jejuni abortion in sheep*. Vet Pathol, 24, 419-426.
- 30. JENSEN R, MILLER VA, HAMMARLUND MA, GRAHAM VR** (1957). *Vibrionic abortion in sheep. I. transmission and immunity*. Am J Vet Res, 18, 326-329.
- 31. KEISLER DH, BURKE V, COPELIN J, LANE B, STARBUCK M, BEHYMER D** (1989). *A serologic survey in ewes treated with one of two Chlamydia/ Campylobacter vaccines*. Small Rumin Res, 2, 345-358.
- 32. KENAR B, ERGANİŞ O, KAYA O, GÜLER E** (1990). *Konya bölgesinde koyunlarda atıklara neden olan Brucella, Campylobacter, Salmonella ve Chlamydia' ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi*. Veterinarium, 1,17-19.
- 33. MARSH H, FIREHAMMER BD** (1953). *Serological relationships of twenty three ovine and three bovine strains of vibrio fetus*. Am J Vet Res. 14, 396-398.
- 34. MARSH H, FIREHAMMER BD, SCRIVNER LH** (1954). *The negative role of the ewe in the transmission of sheep*. Am J Vet Res, 15, 352-355.
- 35. MEINERSHAGEN WA, FRANK FW, HULET CW, PRICE DA** (1969). *Immunity in ewes resulting from natural exposure to Vibrio fetus*. Am J Vet Res, 30, 203-206.
- 36. MILLER V A, JENSEN R** (1961). *Experimental immunization against ovine Vibriosis. I. The use of live and formalin killed Vibrio fetus vaccines*. Am J Vet Res, 22, 43-46.
- 37. MILLER VA, JENSEN R, GILROY J J** (1959). *Bacteremia in pregnant sheep following oral administration of Vibrio fetus*. Am J Vet Res, 20, 677-679.
- 38. MILLER VA, JENSEN R, OGG JE** (1964). *Immunization of sheep against ovine Vibriosis with bacterins containing serotype V in mineral oil*. Am J Vet Res, 25, 664-667.
- 39. MYERS LL, BERG RL, FIREHAMMER BD** (1970). *Immunoserologic properties of antigens from Vibrio fetus of ovine origin*. Am J Vet Res, 31, 1773-1777.
- 40. ON SLW** (1996). *Identification methods for Campylobacters, Helicobacters and related organisms*. Clin Microbiol Rev, 9, 405-422.
- 41. SKIRROW MB** (1994). *Diseases due to Campylobacter, Helicobacter and related bacteria*. J Comp Pathol, 111, 113-149.
- 42. SMIBERT RM** (1978). *The Genus Campylobacter*. Ann Rev Microbiol, 32, 673-709.
- 43. STORZ J, MİNER ML, MARRIOTT ME, OLSON AE** (1966). *Prevention of ovine Vibriosis by vaccination: duration of protective immunity*. Am J Vet Res, 27, 110-114.

**44. THOMPSON DA, GILMOUR NJL** (1978). *The serological response of sheep to a trivalent Campylobacter (Vibrio) fetus var intestinalis vaccine.* Vet Rec 102, 530.

**45. VANDAMME P, GOOSSENS H** (1992). *Taxonomy of Campylobacter, Arcobacter and Helicobacter: A Review.* Zbl Bakteriolog, 276, 447-472.

**46. VARGA J, MEZES B, FODOR L, HAJTOS I** (1990). *Serogroups of Campylobacter fetus and Campylobacter jejuni isolated in cases of ovine abortion.* J Vet Med 37,148-152.

**47. WATSON WA, HUNTER D, BELLHOUSE R** (1967). *Studies on Vibrionic infection of sheep and carrion crows.* Vet Rec 81, 220-226.

**48. WIGGINS EL** (1955). *The effect of Vibriosis upon subsequent reproduction in range ewes.* Am J Vet Res, 16, 214-216.

**49. WILLIAMS CE, RENSHAW HW, MEINERSHAGEN WA, EVERSON DO, CHAMBERLAIN RK, HALL RF, WALDHALM DG** (1976). *Ovine Campylobacteriosis: preliminary studies of the efficacy of the in vitro serum bactericidal test as an assay for the potency of Campylobacter (Vibrio) fetus subsp. intestinalis bacterins.* Am J Vet Res, 37, 409-415.

**50. YARDIMCI H, DİKER KS, AKAN M** (1994). *Use of ELISA for detection of Campylobacter antibodies in sheep.* Turk J Vet Anim Sci. 18, 129-133.

**51. YILMAZ S, KARAMAN Z, GÜLER E, YÜRÜSÜN M** (1990). *Sığır-koyun ve keçilerin Campylobacter fetus enfeksiyonlarında etken ayrımı ile etken serotiplerinin tespiti.* Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 6, 21-32.

**52. YILMAZ S, ÜSTÜNAKIN Y** (1976). *Koyunlarda Vibrio fetus'ten ileri gelen sıklara karşı bir aşı geliştirme çalışmaları.* Etlik Vet Bakteriylol EnstDerg. 4, 39-58.