

CAMPYLOBACTER JEJUNİ İZOLASYONUNDA KULLANILAN BAZI KÜLTÜREL TEKNİKLER VE TAVUK ETLERİNDE TERMOFİLİK CAMPYLOBACTERLERİN ARAŞTIRILMASI*

Investigation of Some Cultural Techniques for the Isolation of Campylobacter jejuni and Thermophilic Campylobacters in Chicken Meat

Murat GÜLMEZ**

ÖZET

Çalışma iki aşamada yapıldı. İlk aşamada, termofilik campylobacterleri saptamada en sık kullanılan 5 ekim tekniğinden hangisinin daha başarılı olduğu incelendi. İkinci aşamada ise, Kars ilinde satışa sunulan taze tüm piliç ve karaciğer ile dondurulmuş tüm piliç ve çeşitli gövde kısımları termofilik campylobacterler yönünden incelenerek donmuş muhafazanın bu etkenler üzerindeki etkisi araştırıldı. En iyi tekniği saptamak için standart suş ile yapay olarak kontamine edilmiş 300 adet piliç butu kullanıldı. Sonuçta, parçalama homojenizatının 0.1 ml'sinden 240; yüzey yıkama solüsyonunun 0.1 ml'sinden 131; filtreden 61; örnekten doğrudan alınan svabtan 44; yüzey yıkama solüsyonundan alınan svabtan 18 ve filtratın 0.1 ml'sinden 5.7 koloni izole edildi.

Saha taramasında, taze piliç ve karaciğerden 25'er adet; dondurulmuş piliç, açık but, göğüs, kanat, tabaklı karaciğer ve taşlıktan donmuş muhafazanın 10, 20, 30 ve 45. günlerinde her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 240 adet örnek incelendi. Taze tüm piliç ve karaciğerlerin tamamında termofilik campylobacter tespit edildi. Dondurulmuş örneklerin doğrudan ekimi sonunda örneklerin % 42.5'inde, zenginleştirme sonucunda ise % 60.4'ünde termofilik campylobacter tespit edildi. Donmuş muhafazanın 10, 20 ve 30. gününde örneklerin doğrudan ekim sonucunda sırasıyla % 96.6, 63.3 ve 11.6'sında; zenginleştirme sonucunda ise 10 ve 20. günde % 100, 30. günde ise % 36.6'sında etken saptandı. 45 günlük örneklerin %5'inde sadece zenginleştirme sonucunda etken izole edilebildi. İncelenen örnekler içerisinde karaciğer örnekleri en çok kontamine olan ürünler olarak tespit edildi. Taze örneklerden elde edilen türlerin % 72'si C. jejuni, % 24'ü C. coli ve % 4'ü C. lari iken; dondurulmuş örneklerden elde edilen türlerin % 97.1'si C. jejuni ve % 3'ü C. coli olarak tespit edildi. C. lari dondurulmuş örneklerin hiçbirinde tespit edilemezken, C. coli sadece 10 günlük dondurulmuş örneklerden elde edilebildi. Donmuş muhafaza süresinin uzamasının termofilik campylobacterler'in yıkılmamasında önemli bir faktör olduğu tespit edildi.

Karşılaştırılan doğrudan ekimler içerisinde parçalama homojenizatından doğrudan ekim yapmanın elde edilen koloni sayısını bakımından diğer tekniklere göre daha etkili olduğu; zenginleştirmenin dondurulmuş örneklerde izolasyon oranını artırdığı görüldü. 0.45 µm por çapına sahip filtrelerin etkenlerin tutulmasında yeterli olduğu ve etkenlerin sadece % 1.14'ünün geçişine izin verdiği saptandı. Filtre, katı besiyeri yüzeyine yapıştırılırken, aynı petrinin iki değişik sahasına tatbik etmenin izolasyonda kolaylık sağladığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: Campylobacter, Termofilik, Piliç eti, İnsidens.

SUMMARY

At the first step of the investigation, it was attempted to compare five of the most commonly used cultural sampling techniques and then to find out the most productive one. At the second step, the presence of thermophilic campylobacters on chicken carcass and other parts sold in Kars, Turkey were investigated taking into account of storage time and conditions.

For the comparison of sampling techniques, artificially contaminated 300 chicken drumsticks were examined. As a result of researching inoculation techniques, 240 colony from 0.1 ml of piercing homogenate; 131 from 0.1 ml of surface washing liquid; 61 from filter; 44 from swabs taken directly from samples, 18 swabs taken from surface washing liquids and 5.7 from 0.1 ml of filtrate were isolated.

Thermophilic campylobacters were isolated from all the 25 chicken carcasses and livers (fresh, for 24h) collected from various shops. Thermophilic campylobacters were isolated from 42.8% of frozen samples (a total of 240 whole chicken carcasses, breasts, drumsticks, wings, livers and gizzards) after direct plating, however, after enrichment they were detected in 60.4% of the samples. Thermophilic campylobacters were isolated from 96.6%, 63.3% and 11.6% of samples after 10, 20 and 30 day of freezing period, respectively by using direct inoculation, enrichment method yielded 100%, 100% and 36.6% of samples positive, respectively. Thermophilic campylobacters were isolated from 5% of samples stored for 45 days using only enrichment method. Among the samples examined, liver was the most contaminated one. Species isolated from fresh samples were 72% Campylobacter jejuni, 24% C. coli, 4% C. lari and 97% C. jejuni, 3% C. coli were isolated from frozen samples. C. lari was not isolated from any of the frozen samples while C. coli was isolated from only samples frozen for ten days. It was observed that prolonged storage period an important factor for the

* Bu çalışma doktora tezinden özetlenmiştir ve KAÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: 97-VF-008

** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin-Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

destruction of thermophilic campylobacters.

Among the direct inoculation techniques, inoculation directly from piercing homogenate were found to be superior to the other techniques in terms of the number of colonies obtained; enrichment was an important factor to increase isolation rate. A 0.45 µm membrane filter was quite succesful in order to prevent microorganisms passing through and only 1.14% managed to pass. Applying filters to two different areas of an agar was found to be easier and faster than applying at only one area for isolation purposes.

Key Words: Campylobacter, Thermophilic, Chicken meat, Incidence.

GİRİŞ

Günümüzde termofilik campylobacterlerin gıda zehirlenmeleri bakımından ilk sırada yer aldığı ve önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (1-4).

İnsan campylobacter enfeksiyonlarının başlıca kaynağının kanatlı etleri olduğu ve piyasada satılan kanatlı etlerinin % 100'e varan oranlarda kontamine olduğu bildirilmiştir (5-12).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda (9,12,25-27), piliç etlerinin yüksek oranda termofilik campylobacter içermesi, piliç sürülerinde portörlük oranının yüksek olduğunu düşündürmektedir. Ülkemizde, salmonellalardan ari kümes hayvanı yetiştirmek ve şüpheli hallerde bu hayvanların ihbarı ve eradikasyon programının takibi (28); keza şüpheli gıdaların bakteriyolojik muayenesi zorunlu iken (29,30) bu konudaki yasa ve tüzüklerimizde campylobacterler ile ilgili herhangi bir maddeye henüz yer verilmediği bilinmektedir.

Çiğ materyal ile pişmiş materyali bulaştırmanın ve bulaşık elleri ağıza götürmenin salmonellaya kıyasla campylobacter yönünden daha da riskli olduğu ve Amerika'da pişmiş piliç etinin çiğ piliç eti ile çapraz kontaminasyonunun, sporadik campylobacter enfeksiyonlarında birinci derecede etkili olduğu bildirilmiştir (3,20).

Campylobacter cinsi içerisinde bulunan *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* "termofilik campylobacterler" olarak adlandırılırlar (4). Termofilik campylobacter araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan kültürel yöntemler arasında ekim aşamasında farklılıklar mevcuttur (10, 12-18).

Termofilik campylobacterlerin ayırt edilmesinde selektif besiyerlerinde üreyen tipik ko-

lonilerden Gram boyama ve karanlık saha mikroskopisi, oksidaz test, aerop ortamda üreme testi, hippurat hidrolizi ve nalidiksik asit duyarlılığı testlerinin kullanılmasının yeterli olduğu bildirilmiştir (4,19).

Az sayıda bakteri içeren örneklerden izolasyon şansını artırmak için zenginleştirmenin, hatta strese duyarlı olan termofilik campylobacterleri izole etmede ön zenginleştirmenin gerekli olduğu savunulmaktadır (4, 21-24).

Gıdalarda az sayıda bulunan campylobacterlerin araştırılmasında, membran filtrasyon tekniğinin seçiciliği artırdığı bildirilmiştir (4,13,15,16). Ancak bu tekniğin uygulanmasında araştırmacılar arasında farklı görüşler söz konusudur (4,14). Selektif besiyerlerinin bulunması ile birlikte daha az kullanılan, ancak, *C. jejuni* araştırmalarında son zamanlarda ön plana çıkan filtre tekniğinin bir dezavantajı, yoğun üremeye sebebiyet vermesidir.

Campylobacterlerin minimal enfektif dozunun 100 adet olduğu (31) bildirilmiştir.

Bu çalışma, tavuk etlerinde termofilik campylobacterleri incelemede en sık kullanılan ekim tekniklerinden hangisinin daha uygun olduğunu saptamak ve Kars ilinde satışa sunulan bazı tüm piliç ve karaciğer ile dondurulmuş tüm piliç ve çeşitli gövde kısımlarında termofilik campylobacterleri araştırmak ve donmuş muhafazanın bu etkenler üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal: Deneysel olarak toplam 300 adet but, saha taraması amacıyla Kars'ta satışa sunulan poşetli taze piliç ve açık taze karaciğerin her birinden 25'er adet; dondurulmuş (-18 °C) piliç, açık but, göğüs, kanat, karaciğer ve taşlığın her birinden muhafaza süresinin

10, 20, 30 ve 45. günlerinde 10'ar adet olmak üzere toplam 290 adet örnek incelendi.

Besiyeri: Bu araştırmada katı besiyeri olarak Modified Charcoal Based Campylobacter Differential Agar-Preston (mCCDA-Preston), zenginleştirme işleminde Brucella-FBP (Ferrous sulphate, Sodium metabisulphite, Sodium pyruvate) Broth, dilüsyon ve yapay kontaminasyon sıvısı olarak Pepton Broth (PB), yüzey yıkamada steril FTS (Fizyolojik Tuzlu Su), değişik ısı derecelerinde ve aerobik üreme testlerinde yarı katı Brucella Broth, NaCl'e duyarlılık testinde %3.5 NaCl ilave edilmiş yarı katı Brucella Broth, hippurat hidrolizi testi amacıyla kolonilerin pasaj edilmesinde ve antibiyotik duyarlılık testlerinde Brucella-FBP Agar, kültürleri saklamada % 15 gliserin katkılı yarı katı Brucella Broth kullanıldı (4,19).

Test organizması: Taze piliç karkaslarından Stern ve ark (4)'nın bildirdiği yöntemle göre izole edilen suşlar Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde kontrol edilmiş ve test organizması olarak kullanılmıştır.

Metot: Deneysel örneklerin mevcut florasından arındırılması işlemi Cristopher ve ark (21)'na, yapay olarak kontaminasyon ise Yোগasundram ve Shane (18)'e göre yapıldı.

Doğrudan svab, yüzey yıkama ve parçalama tekniklerinin her biri için aynı oranda kontamine edilmiş 100 adet but kullanıldı. Ekimde kullanılan tekniklerden doğrudan svab, yüzey yıkama (süzüntüden svab alma ve süzüntü sıvısının doğrudan ekimi) ve parçalama teknikleri Stern ve ark (4) ile Beuchat (19)'ın; yüzey yıkamada uygulanan filtrasyon tekniği ise Humphrey (22)'in bildirdikleri şekilde yapıldı. Filtreden geçebilen etkenlerin tutunanlara oranını tespit etmek amacıyla da filtratın doğrudan ekimi ve aynı zamanda 5 ml'lik bir miktarın zenginleştirilmesi yapıldı.

Doğrudan svab: Örneklerden svab alınarak mCCDA-Preston agarın yüzeyine sürüldü ve aynı svab zenginleştirme besiyerine (VTP-Brucella-FBP Broth) konuldu.

Yüzey yıkama: Her bir butun bulunduğu poşetin içerisine 150 ml steril FTS ilave edildi. Poşetler 2 dk kuvvetlice çalkalandı. Elde edilen

yüzey yıkama solüsyonu steril çift katlı kalın tülbent bezinden steril erlenlere süzüldü. Bu süzüntüden üç farklı şekilde ekim yapıldı.

a. **Süzüntüden svabla ekim:** Alınan svab modifiye CCDA-Preston agarın yüzeyine süzüldü ve aynı svab zenginleştirme besiyerine (VTP-brucella-FBP) konuldu.

b. **Filtrasyonla ekim:** 6 ml alınarak vakumlu filtreden süzüldü. Alınan filtreler modifiye CCDA-Preston agarın yüzeyine yukarıdaki gibi uygulandı.

c. **Doğrudan ekim:** Süzüntü, iyice karıştırıldıktan sonra 0.1 ml alınarak doğrudan mCCDA-Preston besiyerinin yüzeyine sürüldü.

Parçalama: Poşet içerisindeki butların etleri steril pens, makas ve bistüri yardımıyla kemiklerinden ayrıldı. ayrılan etler steril parçalayıcı içerisine alındı. Kullanılan poşet 150 ml steril FTS ile çalkalanarak parçalayıcı içerisine aktarıldı. Böylece poşette kalan etkenlerin de parçalayıcıya alınması sağlandı. İki dakika süreyle parçalama uygulandı. Elde edilen homojenizattan 0.1 ml alınarak doğrudan selektif besiyeri yüzeyine ekildi.

Piyasadan toplanan örneklerin ekiminde deneysel aşamada en fazla koloni veren teknik olarak tespit edilen parçalama tekniği kullanıldı. Tüm piliçlerin sadece derileri parçalandı. Karaciğerlerin ise tümü parçalandı. Ayrıca parçalama tekniğine paralel olarak zenginleştirme işlemi de yapılarak; parçalamada üreme görülmeyen örneklerin zenginleştirilmiş şekilleri kullanıldı.

İnkübasyon, izolasyon ve identifikasyon işlemleri Stern ve ark (4)'na ve Beuchat (19)'a göre yapıldı.

Ekilen petripler ve broth tüpleri, içerisine bir adet mikroaerobik kit konularak 3.5 litrelik jar içerisinde inkübe edildi. Kapakları sıkıca kapatılan jarlar önce 37 °C'de 4 saat bekletiltikten sonra ardından 42 °C'de 44 saat inkübe edildi. Sadece filtreleri içeren petriplerin bulunduğu jarlar 24. saatte açılarak filtreler alındı ve tekrar mikroaerobik ortam sağlanarak 24 saat daha inkübasyona devam edildi. Bunlar dışındaki tüm inkübasyonlar (aerob ortamda üreme testi hariç) mikroaerobik ortamda yapıldı.

İnkübasyondan sonra mCCDA-Preston besiyeri yüzeyinde üreyen tipik koloniler sayıldı. Katı besiyerinden alınan 5 tipit koloniden her biri ayrı ayrı 5'er ml'lik zenginleştirme besiyerine (Brucella-FBP Broth) aktarılarak 42 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Piyasadan alınan bazı örneklerin katı besiyerlerindeki ekimlerinde üreme görülmediği için bunların zenginleştirme besiyerlerinden alınan kültürleri katı besiyerlerine ekilerek koloniler saflaştırıldı, sonra aynı şekilde 5 tipik koloni alınarak zenginleştirme besiyerinde 24 saat inkübe edildi.

Kültürlerin izolasyonu amacıyla, oksidaz, hareket, Gram boyama testlerinden sonra Brucella FBP Broth içerisinde 25 °C'de mikroaerobik ortamda ve 42 °C'de aerop ortamda ve ayrı ayrı % 3.5 NaCl ve % 1 glisin ilave edilmiş yarı katı Brucella-FBP Agar içerisinde üreme testleri yapıldı. Test tüpleri, 42 °C'de 5 gün inkübe edildikten sonra üreme görülen tüpler termofilik campylobacterler yönünden negatif, üreme görülmeyen tüpler ise pozitif olarak değerlendirildi. Daha sonra bu suşlar identifikasyona alındı. Hippurat testinde pozitif reaksiyon veren suşlar *C. jejuni*; hippurat negatif olup, antibiyogram testinde sefalotine dirençli ve nalidiksik aside duyarlı olanlar *C. coli*, her ikisine dirençli olanlar da *C. lari* olarak kabul edildi (4,9).

BULGULAR

Deneysel araştırmaya ait bulgular: Deneysel çalışmada piliç bultarında termofilik campylobacterlerin sayısını saptamada kullanılan tekniklerden elde edilen ortalama koloni sayıları ve tekniklerin % olarak etkinlikleri Tablo 7'de verildi. Yapılan doğrudan ekimler sonucunda küçükten büyüğe doğru sırasıyla filtratın 0.1 ml'sinde 5.7, yıkama solüsyonu svabında 18, kuru svapta 44, filtrede 61, yıkama solüsyonundan yapılan doğrudan ekimin 0.1 ml'sinde 131 ve parçalama homojenizatının 0.1 ml'sinde 240 koloni tespit edildi. Tekniklerin % olarak etkinlikleri sırasıyla, filtrat 1.14, yıkama solüsyonu svabı 3.60, kuru svab 8.80, filtre 12.20, yıkama solüsyonundan doğrudan ekim 26.21 ve parçalama 48.02 olarak bulundu (Tablo 1).

Yapılan bütün ekimlerde filtrelerin ikinci sahasında çok yoğun üremeler olduğu için koloniler sayılamadı. Verilen sayılar filtrenin ilk sahasından elde edildi.

Saha araştırmalarına ait bulgular

Taze örnekler: İncelenen taze piliçlerin de-risinde en az 1.2×10^1 kob/g, en çok 5.4×10^3 kob/g ve ortalama 3.3×10^2 kob/g olmak üzere bütün örneklerde termofilik campylobacter saptandı (Tablo 2).

Tablo 1. Denysel olarak kontamine edilen örneklerden farklı ekim teknikleri kullanılarak *C. jejuni* araştırılmasından elde edilen değerler.

Table 1. Parameters obtained from artificially contaminated samples by using different sampling techniques.

	Kuru Svab	YYS svabı	YYS doğrudan	YYS filtre*	Filtrat	Ph doğrudan
X	44	18	131	61	5.7	240
%	8.80	3.60	26.21	12.20	1.14	48.02

YYS: Yüzey yıkama solüsyonu

PH: Parçalama homojenizati

*: Sadece filtrenin uygulandığı ilk sahadan sayım yapılabilmıştır.

X: Aritmetik ortalama

Tablo 2. Bir günlük soğutulmuş örneklerden elde edilen değerler.
Table 2. Parameters obtained from one day fresh chickens

Örnek	En az kob/g	Ort. Kob/g	En çok kob/g	% C.j.	% C.c.	% C.l.
Tüm piliç	1.2x10	3.3x10 ²	5.4x10 ³	94.4	4.8	0.8
Karciğer	7.2x10	6.3x10 ²	7.5x10 ³	92.8	6.4	0.8

C.j: C. jejuni, C.c.: C. coli, C.l.: C. lari, Ort.: Ortalama

Tablo 3. Dondurulmuş tüm piliç örneklerinden ve diğer kısımlarından elde edilen değerler.
Table 3. Parameters obtained from whole frozen chickens and other parts.

Tüm piliç	Termofilik campylobacter (kob/g)				Doğ. %(+)	Zen. %(+)	(%)		
	DMS (gün)	En az	Ortalama	En çok			C.j.	C.c.	C.l.
Tüm piliç	10	0.4x10	1.4x10	2.8x10	100	100	90	10	-
	20	0.2x10	2.6x10	5.1x10	40	100	100	-	-
	30	-	-	-	10	90	100	-	-
	45	-	-	-	-	-	-	-	-
Göğüs	10	2.0x10	3.6x10	5.7x10	100	100	90	10	-
	20	0.5x10	0.5x10	0.6x10	40	100	100	-	-
	30	-	-	-	-	30	100	-	-
	45	-	-	-	-	-	-	-	-
But	10	3.6x10	7.3x10	1.1x10 ²	80	100	100	-	-
	20	0.3x10	1.0x10	1.8x10	60	100	100	-	-
	30	0.4x10	0.8x10	1.3x10	20	50	100	-	-
	45	-	-	-	-	-	-	-	-
Kanat	10	1.6x10	1.9x10	2.2x10	100	100	80	20	-
	20	0.2x10	0.4x10	0.7x10	60	100	100	-	-
	30	-	-	-	-	40	100	-	-
	45	-	-	-	-	-	-	-	-
Karaciğer	10	2.8x10 ²	5.7x10 ²	8.0x10 ²	100	100	80	20	-
	20	1.2x10	9.7x10	2.5x10 ²	100	100	100	-	-
	30	0.9x10	1.5x10	2.2x10	30	50	100	-	-
	45	-	-	-	-	20	100	-	-
Taşlık	10	1.9x10 ²	3.2x10 ²	5.4x10 ²	100	100	90	10	-
	20	0.9x10	3.6x10	6.3x10	80	100	100	-	-
	30	0.6x10	0.9x10	1.2x10	20	40	100	-	-
	45	-	-	-	-	10	100	-	-

DMS: Dondurulmuş muhafaza süresi

Doğ: Doğrudan ekim

Zen: Zenginleştirme

Tablo 4. İncelenen örneklerden elde edilen termofilik campylobacter türleri ve % dağılımları
Table 4. Strain and % distributions thermophilic camylobacters isolated from samples.

Örnek*	C.j.	C.c.	C.l.	C.j.+C.c.	C.j.+C.l.	C.c.+C.l.	C.j.+C.c.+C.l.
Taze	72	24	4	24	2	-	2
Dondurulmuş	97	3	-	3	-	-	-

*: İncelenen taze örneklerin sayısı 50, dondurulmuş örneklerin sayısı ise 240 adettir.

İzole edilen suşların % 94.4'ü *C. jejuni*, %4.8'i *C. coli* ve %0.8'i *C. lari* olarak tespit edildi. Taze karaciğerlerden ortalama 6.3×10^2 kob/g olmak üzere tamamında (%100) termofilik campylobacter izole edildi. İzole edilen suşların % 92.8'i *C. jejuni*, %6.4'ü *C. coli* ve %0.8'i *C. lari* olarak identifiye edildi (Tablo2).

Dondurulmuş Örnekler: İncelenen dondurulmuş örneklerden elde edilen değerler Tablo 3'te verildi. Doğrudan ekimde 10 ve 20 günlük dondurulmuş örneklerin tümünde etten izole edildi. 30 günlüklerde ise tüm piliç, but, karaciğer ve taşlıkta etken izole edilirken, kanat ve göğüsten etken izole edilemedi. Zenginleştirme sonucunda 10 ve 20 günlük tüm örneklerde, 30 günlük örneklerin %10-50'sinde, 45 günlük örneklerden ise sadece karaciğerlerin %20'sinde ve taşlıkların %10'unda termofilik campylobacter izole edildi (Tablo 3).

Taze örneklerde ortalama *C. jejuni/C. coli/C. lari* % oranları sırasıyla 72/24/4, donmuş ürünlerde bu oran 97/3/0 olarak bulundu (Tablo 4).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Piliç etleri ve gövde kısımlarında termofilik campylobacterlerin araştırılması amacıyla kullanılan besiyerlerinin, saplementlerin, üretme koşullarının vb. etkinliğini araştırmak amacıyla yapılan birçok araştırma bulunmasına rağmen, örneğin deneye sokulmasında kullanılan tekniklerin karşılaştırıldığı detaylı bir araştırmaya rastlanamamıştır.

Bu araştırmada, piyasadan alınan taze piliç karkaslarına, hem parçalama hem de svab tekniği uygulanmıştır. Her iki teknikte de tüm örneklerden etken izole edilmiştir. Sonuçlarımız, yoğun olarak kontamine olan, hasar

görmemiş veya az hasar görmüş bir floraya sahip bir günlük piliç etlerinden termofilik campylobacterleri araştırmada, svabla ekim yapmanın yeterli olabileceğini doğrulayan araştırmacıların (2,8,9,12,16,18,25) bulgularıyla uyum göstermektedir.

Yogasundram ve Shane (18), kob/cm² hesaplamada yüzey yıkama solüsyonunun svabından yararlanmış ve hem örneğin yüzeyinden doğrudan svab hem de yüzey yıkama solüsyonundan alınan svab (süzüntü svabı) ile kob/ cm² veya kob/g hesabı yapmanın, çok taze örneklerde uygun olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada, parçalanma homojenizasyonu hazırlanarak ekim yapmak tercih edilmiştir. Çünkü, araştırmanın ilk basamağında, her iki svab tekniği de diğer tekniklere kıyasla çok daha düşük sayıda koloni verdi. Hatta, süzüntü svabı, verdiği koloni sayısı bakımından en az etkili yöntem olarak tespit edildi.

Kullanılan filtrasyon tekniği, Humphrey (22)'in yapay olarak kontamine ettiği su ve süt örneklerinden *C. jejuni* araştırmada kullandığı teknikle benzerdir. Araştırmacı, süzme işleminden sonra filtreyi ters çevirerek katı besiyeri üzerine yapıştırmış ve 24 saatlik inkübasyondan sonra filtreyi buradan alıp, yeni bir petriye aktarmış ve dolayısıyla bir örneğin doğrudan ekimi için, bir adet petri ile birlikte 24 saat daha fazla zaman harcamıştır. Bu araştırmada ise, bu uygulamadan farklı olarak ilk ekim esnasında 4.5 cm çapa sahip olan filtre, 9 cm çapa sahip olan katı besiyeri petrisinin yüzeyinde, iki değişik sahaya yapıştırılmıştır. Şöyle ki, birinci yarım sahaya hava kabarcıkları kalmayacak şekilde yapıştırılan filtre, buradan alınıp ikinci yarım sahaya yapıştırılmıştır. Böylece birinci sahada az veya çok, ancak

her zaman bir örnek dağılım gösteren ve böylece hem rahat sayım yapmaya hem de koloni saflaştırmaya büyük kolaylık sağlayarak filtre tekniğinin dezavantajlarını ortadan kaldıran düzenli bir koloni dağılımı elde edildi. Filtrenin ikinci sahasında, hemen her defasında filtre ile besiyeri arasında sıvı biriktiği, kolonilerin birbirine karıştığı ve filtre kaldırılırken kolonilerin dağıldığı görüldü. Araştırmada, 0.45 µm por çapına sahip filtreler kullanıldı ve filtre kaybı sadece % 1.14 olarak tespit edildi. Bu sonuç, Stern ve ark (4)'ünün bildirdiğine göre, 0.65 µm por çaplı filtre kullanan ve filtrelerin % 20 oranında geçirgenliğe sahip olduğunu ortaya koyan Park ve ark'nın vardıkları sonuç ile karşılaştırıldığında 0.45 µm por çapına sahip filtrelerin kullanılmasının daha uygun olacağını göstermektedir.

Piliç etlerinde termofilik campylobacterlerin araştırılmasında, parçalamanın çok fazla avantajlı olmadığı bildirilmiştir (4). Oysa parçalama tekniği, bu araştırmada en fazla sayı veren teknik olarak tespit edildi. Yüzey yıkama solüsyonundan doğrudan ekimle, svablardan ve filtrenin birinci sahasından daha fazla, parçalamadan ise daha az sayıda koloni elde edildi. Parçalama ve filtre tekniklerine göre daha az işlem gerektiren bu yöntem, hem doğruya daha yakın bir sayı elde etmede, hem de zamana ihtiyaç duyulduğu durumlarda tercih edilebilir.

Yapılan bu araştırmada, taze piliç etlerinin tümünden termofilik campylobacter izole edilmiştir. Bu oran bazı araştırmacıların (7,8,11,12) bulgularıyla benzerlik gösterirken, bazılarından (10,26) yüksek; Marinescu ve ark (16)'nın bulgularına ise yakın bulundu. Karaciğer örneklerinden izole ettiğimiz % 100'lük termofilik campylobacter oranı, bazı araştırmacıların (9,10,17,21) bulgularından daha yüksektir. Farklılıklar, kullanılan örneklerin hijyenik kalitesine, muhafaza süresine, muhafaza koşullarına ve uygulanan ekim tekniğine bağlanabilir.

Taze örneklerin, dondurulmuş örneklere göre daha yüksek sayıda termofilik campylobacter içerdiği gözlemlendi. Taze karaciğerde 7.5×10^3 kob/g oranında etken saptanmasına karşılık, dondurulmuş karaciğerde 8.0×10^2 kob/g oranında saptandı. Benzer durumun, taze ve dondurulmuş tüm piliçler için de söz konusu

olduğu ve muhafaza süresi uzadıkça bakteri sayısında azalma gözlemlendi. Şöyleki, 45 günlük örneklerin hiçbirinden doğrudan ekim sonucunda etken izole edilmedi. Bu durum, etkenlerin dondurma ısı derecelerine ve bekletmeye karşı duyarlı olduklarını bildiren araştırmalarla uyum göstermektedir (1,2,18,27).

Gerek taze örneklerde gerekse dondurulmuş örneklerde, en fazla kontaminasyon karaciğer örneklerinde görüldü. Benzer şekilde yapılan karşılaştırmalı araştırmalarda, karaciğerlerin diğer gövde ve iç organ kısımlarından daha fazla sayıda etken içerdiği ve bunun da kesimhane işlemlerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (10,17).

Yapılan bir araştırmada (18), C. jejuni'nin yapay olarak kontamine edilen piliç karkası yüzeyinde 182 gün canlı kaldığı bildirilmiştir. Bu araştırmada ise 45 günlük örneklerin sadece % 5'inde etken izole edilebilmiştir. Yapılan literatür taramasında, etkenlerin doğal ve yapay ortamlardaki davranışlarının karşılaştırmalı araştırıldığı bir kaynağa rastlanmamıştır. Buradaki farklılık, etkenlerin doğal ve yapay kontaminasyon ortamlarına olan toleranslarındaki veya muhafaza koşullarındaki farktan kaynaklanmış olabilir.

Tür düzeyinde incelendiğinde, taze örneklerde % 72 C. jejuni, % 24 C. coli ve % 4 oranında C. lari identifiye edilirken, dondurulmuş örneklerde ise % 97 C. jejuni, ve % 3 oranında C. coli tespit edildi ve hiçbir örnekte C. lari izole edilemedi. Yıldırım (12) ise, incelediği 32 adet dondurulmuş piliç karkasının hiçbirinden C. jejuni izole edemezken, C. coli ve birinden de C. lari izole ettiğini bildirmiştir. Taze örneklerde saptanan C. jejuni oranı, Yıldırım (12)'nin bildirdiği orandan düşük, Akman ve ark (26)'nın bildirdiklerinden yüksektir. C. coli oranı Akman ve ark (26)'nın bildirdiği orandan düşük, Yıldırım (12)'nin bildirdiği orandan ise yüksektir. Bu yönde yapılan bir araştırmada ise (16), C. coli oranının C. jejuni'den daha yüksek çıkmasının nedeni besiyerlerine ilave edilen saplementte sefalotin bulunmamasına bağlanmıştır. Fakat, araştırmamızda kullanılan saplement sefalotin içermemesine rağmen, C. coli oranı C. jejuni'den daha düşük çıkmıştır.

Yapılan araştırmalarda (3,20), sporadik campylobacter enfeksiyonlarının en yaygın enfeksiyon şekli olduğu ve bu enfeksiyon şeklinde de çiğ materyal ile pişmiş materyal arasında olan çapraz kontaminasyonun çok önemli olduğu, hijyen kurallarına uyulan küçük mutfaqlarda dahi çalışanların elleriyle çevreyi ve pişmiş ürünleri kontamine ettikleri (5) bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir araştırmada (9), piliç eti satış yerlerinde çalışan personelin % 83'ünün ellerinin C. jejuni ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu araştırmada taze ürünler ile 10 ve 20 gün süreyle dondurulmuş ürünlerin yüksek oranda kontamine oldukları ve minimal enfektif dozun 100 adet bakteri olduğu (31) gözönüne alındığında, bu ürünlerle temas halinde olan kişilerin mutlak sretle hijyen kurallarına ve çapraz kontaminasyonlara dikkat etmesi gerektiği açıkça görülmektedir.

Piliç etlerinden termofilik campylobacter izole etmede kullanılan en yaygın 5 kültürel teknik arasında en iyi tekniğin parçalama olduğu; piliç etlerinden termofilik campylobacter izolasyonunda zenginleştirmenin, zenginleştirme tercih edilmez ise taze örneklerde yüzey yıkama solüsyonunun doğrudan ekimin, dondurulmuş ürünlerde ise filtrasyonun daha uygun olduğu, yapılan tüm çalışmalarda doğrudan ekimin yanı sıra zenginleştirmenin de paralel yürütülmesinin daha yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Salmonellozis ve diğer birçok gıda kaynaklı enfeksiyonda olduğu gibi, campylobacter enfeksiyonu ile mücadelede de en etkili yöntem, üretim aşamasında bir eradikasyon programı uygulamaktır (6). Bu etkenlerden ari kesim hayvanı yetiştirildiği zaman, enfeksiyon zincirinin en önemli halkası da kırılmış olacaktır. Bu nedenle kesime alınan sürülerin campylobacter yönünden incelemeye alınması, kontaminasyon kaynaklarının yok edilmesi gerekmektedir.

Kars ili piyasasında satışa sunulan ticari piliç etleri ve gövde kısımlarından, taze örneklerin dondurulmuş örneklerden, özellikle C. jejuni yönünden daha riskli olduğu ve donmuş muhafaza süresi uzadıkça etkenlerin sayısında belirgin bir azalmanın olduğu gözlendi.

KAYNAKLAR

1. Shane M: The significance of C. jejuni infection in poultry: a review. *Avian Pathol* 21: 189-203, 1992.

2. Anan: C. jejuni / coli. A national advisory committee on microbiological criteria for foods. *J Food Prot* 57: 1101-1121, 1994.
3. Boer E and Hanne M: Cross-contamination with C. jejuni and salmonella spp. from raw chicken during food preparation. *J Food Prot* 53(12): 1067-1068, 1990.
4. Stern N J, Patton M C, Doyle M P, Park C E, McCardell B A: Campylobacter 475-495. In: Vanderzant C and Spillstoesser F (Eds). *Compendium For the Microbiologic Examination of Foods*. 3rd ed. APHA, 1015 Fifteenth Street, NW Washington DC 20005, 1992.
5. Hofkins R S and Scott A S: Handling raw chicken as a source for a sporadic Campylobacter jejuni infections. *J Infect Dis*, 148: 4, 770, 1983.
6. Stern N J and Meinersmann R J: Potentials for colonization control of C. jejuni in the chicken. *J Food Prot* 52(6): 427-430, 1989.
7. Acuff G R, Vanderzant C, Hanna M O, Ehlers J G, Polan F A and Gardner F A: Prevalence of Campylobacter jejuni in Turkey carcass processing and further processing of turkey products. *J Food Prot* 49, 712-717, 1986.
8. Atabay H İ and Corry J E L: The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens. *J Appl Microbiol* 83: 619-626, 1997.
9. Ghalehkefa Dizgah D: İstanbul piyasasında satışa sunulan eşitli kanatlı eti ve et rnlerinde Campylobacter jejuni'nin varlığı üzerine araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstits, Doktora Tezi, İstanbul, 1995.
10. Khalahalla A F: C. jejuni in poultry giblets. *J Vet Med* B37: 31-34, 1994.
11. Lee Y, Tai C L, Lin S C and Chen Y T: Occurrence of plasmids and tetracycline resistance among Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from whole market chickens and clinical samples. *Int J Food Microbiol* 24, 161-170, 1994.
12. Yıldıırım G: İstanbul ve yöresinde satışa sunulan hazır piliç etleri ve rnlerinde C. jejuni saptanması üzerine izolasyon ve identifikasyon alışmaları. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstits, Doktora Tezi, İstanbul, 1996.
13. Dawkins H C, Bolton F J and Hutchinson D N: A study of the spread of sporadic C. jejuni in four large kitchens. *J Hyg Comb* 92: 357-364, 1984.
14. Endtz H P and Ruijs G J H M: Zwinderman A H, Reijnders T, Bievers M and Mouton P: Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various campylobacter species from stool specimens. *J Clin Microbiol* 29(5) 1007-1010, 1991.
15. Humphrey T J and Lanning D G: Salmonella and C. jejuni contamination of broiler chicken carcasses and scald tank water: the influence of water pH. *J Appl Bacteriol* 63: 21-25, 1987.
16. Marinescu M, Festy B and Derimary F: High frequency of isolation of C. coli from poultry meat in France. *Eur J Clin Microbiol* 6(6): 693-694, 1987.
17. Stern N J, Green S S, Thanker N, Krout D J, and Chiu J: Recovery of Campylobacter jejuni from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter. *J Food Prot* 47(5): 372-374, 1984.
18. Yogasundaram K and Shane S M: The viability of C. jejuni on refrigerated chicken drumsticks. *Vet Res Com* 10: 479-486, 1986.

19. Beuchat L R: Methods for detecting and enumerating *C. jejuni* and *C. coli* in poultry. *Poultry Sci* 65: 2192-2198, 1986.
20. Varnam A H and Sutherland J P: Meat and Meat Products. pp. 281. Chapman and Hall, 2-6, Boundary Row, London, SE1 8HN, UK, 1995.
21. Cristopher F M, Smith G C and Vanderzant C: Examination of poultry giblets, raw milk and meat for *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. *J Food Prot*, 45: 3, 260-262, 1982a.
22. Humphrey T J: Techniques for the optimum recovery of cold injured *C. jejuni* from milk or water. *J Appl Bacteriol* 61: 125-132, 1986.
23. Fricker C R: A note on the effect of different storage procedures on the ability of Preston medium to recover campylobacters. *J Appl Bacteriol*, 58: 57-62, 1985.
24. Giesendorf B A J and Quint W G V: Detection and identification of campylobacter spp. using the polymerase chain reaction. *Cell Mol Biol* 41(5): 625-638, 1995.
25. Yıldız A ve Diker K S: *Campylobacter* contamination in chicken carcasses. *Turkish J Vet and Ani Sci* 16, 433-439, 1992.
26. Akman A, Koz F ve Gürdül A: Ankara ili ve çevresinde bulunan kanatlı mezbahalarında kesilen piliçlere ait karkasların ve mezbaha atık sularının campylobacter etkenleri yönünden incelenmesi. *Etlik Vet Mikrob Derg* 8(1): 179-197, 1995.
27. Bostan K, aksu H, Özgen Ö ve Uğur M: Soğutma ve dondurmanın etlerdeki *C. jejuni*'nin canlılığı üzerine etkisi (basılmamış). İstanbul Üniv Vet Fak Besin Hij. ve Tekn. A. D. İstanbul.
28. Anon: *Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Yönetmeliği*, Bakanlar Kurulu Kararı, Karar Sayısı 89/13838, 1989.
29. Anon: *Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği*, No 23179, 1997.
30. Anon: Piliç eti, T. S. 2409, *Türk Standartları Enstitüsü* Mart-1995.
31. Black R E, Levine M M, Clements M L, Hughes T P and Blaser M J: Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J Infect Dis* 157: 427-479, 1988.