

SAĞLIKLI VE SÜRGÜNLÜ HAYVANLARDAN CAMPYLOBACTER FETUS
SUBSP. JEJUNI İZOLASYONU ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Serdar Diker*

Ersin İstanbulluoğlu**

Studies on the isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from healthy and diarrheic animals.

Summary: *In this study, 150 fecal samples from healthy and diarrheic domestic animals were examined for the presence of Campylobacter fetus subsp. jejuni (CFJ). All fecal samples were cultured on Blaser's selective medium and incubated at 37°C in a special atmosphere for 3 days. Smears of suspicious colonies with the grey-pink in colour were gram stained for the presence of typical "gull-wings". The criteria used to identify CFJ isolates were "tadpole-like" motility under phase-contrast illumination, microaerophylic requirement, growth at 42°C, no growth at 25°C, and positive catalase and oxidase tests.*

Out of of 150 specimens examined, CFJ was found to be present in 57 (38%). The isolation rates for lambs, calves, cattle and dogs were 40% (16), 33%(13), 28%(10) and 51%(18), respectively. Of 60 cultured fecal specimens from diarrhoeal animals, 46% (28) were positive for CFJ, whereas 32%(29) of 90 specimens from animals without diarrhea were positive.

Özet: *Bu çalışmada, çeşitli türlerden 150 sağlıklı ve sürgünlü evcil hayvanın dışkı örnekleri Campylobacter fetus subsp. jejuni (CFJ) yönünden incelendi. Tüm dışkı örnekleri Blaser selektif besiyerine ekilerek 37°C de, özel bir atmosferde, 3 gün inkube edildi. Gri-pembe renkli şüpheli kolonilerden, tipik "martı kanadı" şeklinin görülmesi için Gram boyama yapıldı. CFJ suşlarının ayrımı için kriter olarak: fazkontrasta "kurbağa larvası gibi" hareket, mikroaerofilik gereksinim, 42°C de üreme, 25°C de ürememe, pozitif katalaz ve oksidaz testleri kullanıldı.*

* Arşt. Gör., A. Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

** Doç.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

İncelenen 150 örneğin 57 (%38) sinde CFJ bulundu. Kuzular, buzağular, sığırlar ve köpekler için izolasyon oranları sırası ile %40(16), %33(13), %28(10) ve %51(18) olarak bulundu. İncelenen 60 sürgünlü dışkı örneğinin %46(26) sından, sürgünlü dışkı örneklerinin ise %32(29)sinden CFJ izole edildi.

Giriş

“Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”e göre *Campylobacter fetus* üç alt türe ayrılmıştır: *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *intestinalis* ve *C. fetus* subsp. *jejuni* (CFJ)(25). CFJ koyun, kuş ve köpek dışkılarında, dışkıdan bulaşarak inek sütlerinde bulunur ve koyunlarda yavru atmaya neden olur (1,5,18,20,22). Son yıllarda, mikroorganizmanın, domuz, kuzu, buzağı ve köpeklerin enteritlerinde rolü olduğunu ve sağlıklı hayvanların da etkeni yüksek oranda taşıdıklarını ortaya koyan çalışmalar yapılmıştır (2,3,9,14,15,22). Ülkemizde, hayvanlardaki CFJ infeksiyonları ve hayvanların insanlar için portörlük özellikleri üzerinde bir çalışma yapılmamıştır.

İzolasyonları için bazı özel koşullara gereksinim göstermeleri ve enterobakterilerin engellemesi nedeniyle, dışkıdan CFJ izolasyonunda bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır. Ancak son yıllarda, seçici bazı besiyerlerinin geliştirilmesi, insanlarda bakteri kökenli sürgünlülerin önemli etkenlerinden biri olan CFJ’nin izolasyonunu kolaylaştırmıştır (4,10,12,24). CFJ insan infeksiyonlarından ilk kez 1957 de izole edilmiş ve o zaman için “related vibrio” şeklinde tanımlanmıştır(17). Seçici besiyerlerinin kullanılmaya başlanmasından sonra ise CFJ’nin Avrupa ve Kuzey Amerika’daki sürgünlü hastalardan, *Salmonella* ve *Shigella* gibi patojenler kadar sık izole edildiği bildirilmektedir (6,7,13). İnfeksiyonun epidemiyolojisi üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda çeşitli hayvan türlerinin etkenin konakçısı olduğu ve hayvanlarla direk temasın, kontamine süt, süt ürünleri ve etlerin bulaşmada önemli rol oynadıkları açıklanmıştır(5,8,23).

Bu çalışmanın amacı, çeşitli hayvan türlerine ait sürgünlü ve sürgünlü dışkı örneklerindeki CFJ dağılımını incelemektir.

Materyal ve Metot

Dışkı Örnekleri: A.Ü. Veteriner Fakültesi Kliniklerine getirilen sürgünlü 19 kuzu, 18 buzağı, 23 köpeğin dışkı örnekleri ve sürgünlü

21 kuzu, 22 buzağı, 35 sığır ve 12 köpeğin olmak üzere toplam 150 dışkı örneği CFJ yönünden incelendi. Steril eküvyonlar yardımı ile toplanan dışkı örnekleri bir saat içinde gerekli besiyerlerine ekildi.

CFJ İzolasyonu: CFJ suşlarının izolasyonu için Blaser Antibiyotik Supplimenti (Oxoid) içeren Blood Agar Base No.2 (Oxoid) besi yeri kullanıldı(4). Ekim yapılan besi yerleri %5 O₂, %10 CO₂ ve %85 N₂ içeren bir ortamda 37° de 3 gün beklendi.

CFJ İdentifikasyonu: Düzgün, yuvarlak kenarlı konveks koloniler ile besiyeri üzerine yayılma eğilimi gösteren gri-pembe renkli koloniler toplandı. Bu kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram yöntemi ile boyanarak, tipik "martı-kanadı" ve virgül şeklindeki Gram negatif bakterilerin identifikasyonları biyokimyasal ve tolerans deneylerinden yararlanarak yapıldı. Harçet muayeneleri, faz-kontrasta ve karanlık sahada yapıldı.

Tolerans Testleri: İzole edilen suşların 25°C deki ve 42°C deki üremeleri karaciğerli buyyonda ve Blood Agar Base No.2 besi yerinde gözlemlendi. Tuz tolerans testi %3.5 NaCl içeren yarı katı besiyerinde yapıldı.

Biyokimyasal Testler: H₂S üretimi yarı katı besi yerinde kurşun asetatlı kağıtla incelendi(11). Katalaz testi Cowan'a göre yapıldı (11). Oksidaz testi için Bactident (Merck) kullanıldı.

Bulgular

İncelenen 150 dışkı örneğinin 57 adedinden (%38) CFJ izole ve identifiye edildi. İzole edilen suşların tümü CFJ için karakteristik olan biyokimyasal ve tolerans özelliklerini gösterdiler (Tablo 1).

Tablo 1: İzole edilen CFJ suşlarının biyokimyasal ve tolerans özellikleri.

İncelenen suş adedi	Üreme Yetenekleri			Katalaz	Oksidaz	H ₂ S
	25°C	42°C	%3.5 NaCl			
57	—	+	--	+	+	+

İncelenen suşların tümü 42°C de üredi, 25°C de ve %3.5 NaCl'li ortamda üremedi. Bütün suşlar katalaz, oksidaz ve H₂S testlerinde pozitif bulundular.

İzole edilen CFJ suşlarının çeşitli hayvan türlerine göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. Hayvanların sağlık durumları gözetilmek-

sizin sadece türler arasında CFJ izolasyon oranları incelendiğinde 150 dışkı örneği içinde en yüksek dağılım köpeklerde 18(%51), daha sonra sırası ile kuzularda 16(%40), buzağılarda 13(%33) ve sığırlarda 10(%28) olarak belirlendi.

Tablo 2: Çeşitli hayvan türlerinden CFJ izolasyon oranları.

Hayvan Türü	İncelenen Örnek Adedi	CFJ İzolasyon Adedi (%)
Kuzu	40	16 (%40)
Buzağı	40	13 (%33)
Sığır	35	10 (%28)
Köpek	35	18 (%51)
TOPLAM	150	57 (%38)

Sürgünlü ve sürgünsüz hayvanlardan izolasyon oranları Tablo 3 te gösterilmiştir. Sığırlardan sürgünlü dışkı örneği elde edilemediği için, sadece sürgünsüz hayvanlardan toplanan dışkı örnekleri incelendi. 19 sürgünlü kuzunun 8 inden (%42), 21 sürgünsüz kuzunun 8'inden (%38), 18 sürgünlü buzağının 7 sinden (%39), 22 sürgünsüz buzağının 6 sından (%27), 23 sürgünlü köpeğin 13 ünden (%57) ve 12 sürgünsüz köpeğin 5 inden (%42) CFJ izole edildi.

Tablo 3: CFJ izolasyon oranlarının sürgünlü ve sürgünsüz hayvanlara göre dağılımı.

Hayvan Türü	Sürgünlü Hayvanlar		Sürgünsüz Hayvanlar	
	İncelenen örnek No.	CFJ izolasyonu	İncelenen örnek No.	CFJ izolasyonu
Kuzu	19	8 (%42)	21	8 (%38)
Buzağı	18	7 (%39)	22	6 (%27)
Sığır	-	-	35	10 (%28)
Köpek	23	13 (%57)	12	5 (%42)
TOPLAM	60	28 (%46)	90	29 (%32)

Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda CFJ için seçici özelliğe sahip olan besi yerlerinin geliştirilmesinden sonra, çeşitli ülkelerde insan ve hayvan pisikularından izole edilen CFJ suşlarının sayısında büyük bir artış olmuştur (6,7,13). Bu çalışmaların ışığı altında CFJ'nin önemli bir zoonoz etkeni olduğu ve insanlara bulaşmada en önemli rolü hayvanların ve hayvansal kaynaklı gıdaların oynadığı ortaya konmuştur (6,13). Blaser, Jones ve Robinson, enteritli hastalardan izole ettikleri CFJ

suşlarının kaynaklarının süt olduğunu bildirmişlerdir(5,16,23). Bolton sığır etlerinin %32 sinden, koyun etlerinin %70 inden, Luechtefeld, paketlenmiş hindi etlerinin %34 ünden, Park, tavuk karkaslarının %54 den, Smeltzer ise %94 ünden CFJ izole etmişlerdir (8,19, 21,26).

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda, sürgünlü hayvanların yanı sıra, sağlıklı hayvanların dışkularından da CFJ izole edildiği bildirilmiştir. Allsup, sürgünlü buzağuların dışkularından %30, sağlıklı buzağuların dışkularından %16.7 oranında CFJ izole ettiğini bildirmiştir(1). Al-Mashat, 47 sığırın enterik lezyonlarından 7 CFJ suşu ayırdığını ve CFJ nin saf kültürlerini kullanarak buzağularda deneysel olarak sürgün ve dizanteri oluşturduğunu açıklamıştır(2,3). Firhammer, sürgünlü buzağuların dışkı örneklerinden %40 oranında CFJ izole ettiğini ve etkenin genç kuzular ile buzağuların sindirim kanalında patolojik değişiklikler yapabilecek güçte olduğunu bildirmiştir(14). Luechtefeld, Denver hayvanat bahçesinde yaptığı bir araştırmada, sürgünlü hayvanlardan %31.8, sağlıklı hayvanlardan ise %5.6 oranında CFJ ayırmıştır(18). Aynı araştırmacı, 600 hindi dışkısından %100 oranında CFJ izole ettiğini bildirmiştir(19). Prescott ise, sağlıklı köpeklerden %0.5, sığırlardan %2.5 oranında CFJ ayırdığını ve sağlıklı hayvanlar ile sürgünlü hayvanlardaki izolasyon oranları arasında bir fark bulunmadığını ileri sürmüştür(22). Bruce, sürgünlü ve sürgünsüz köpeklerin dışkularından aynı oranda (%39- %38) CFJ izole etmesine rağmen, etkenin özellikle köpek yavrularında hemorajik enterite neden olduğunu ortaya koymuştur(9).

Diğer ülkelerde yapılan çalışmaların çoğunda bildirilen CFJ izolasyon oranları ile araştırmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar arasında paralellik bulunmuştur. İncelenen örnek sayısı sınırlı da olsa, Türkiye'de CFJ'nin hayvan topluluklarındaki varlığı bu çalışma ile ilk kez ortaya konmaktadır. Hayvanların sağlık durumları dikkate alındığında, çok olmamakla birlikte, sürgünlü hayvanlardan izole edilen CFJ oranında bir fazlalık gözlenmiştir.

Yeni doğan kuzu ve buzağuların enteritleri, ülkemiz hayvancılığına, dolayısıyla ekonomiye büyük kayıplar verdirmektedir. Ayrıca, CFJ'nin ülkemiz hayvan popülasyonlarındaki yüksek oranı, halk sağlığı açısından önemli sorunlar yaratacak niteliktedir. Ülkemizde, CFJ'nin hayvanların enteritlerindeki rolünün ve normal barsak florasındaki dağılımının daha geniş kapsamlı araştırmalarla belirlen-

mesinin, gerek ülke hayvancılığının gelişmesine, gerekse insan infeksiyonlarına neden olan bulaşma yollarının ortaya çıkmasına önemli katkılar yapacağı kanısındayız.

Literatür

- 1- **Allsup, T.N. and Hunter, D.** (1973): *The isolation of vibrios from healthy and diseased calves.* Vet.Rec., 93: 389-392.
- 2- **Al-Mashat, R.R. and Taylor, D.J.** (1980): *Campylobacter spp in enteric lesions in cattle.* Vet.Rec., 107: 31-34.
- 3- **Al-Mashat, R.R. and Taylor, D.J.** (1980): *Production of diarrhoea and dysentery in experimental calves by feeding pure cultures of Campylobacter fetus subsp.jejuni.* Vet. Rec., 107: 459-464.
- 4- **Blaser, M.J., Berkowitz, I.D., LaForce, F.M., Cravens, J., Reller, L.B. and Wang, W-L.L.** (1979): *Campylobacter enteritis: Clinical and epidemiological features.* Ann. Inter.Med., 91:179-185.
- 5- **Blaser, M.J., Cravens, J., Powers, B.W., LaForce, F.M. and Wang, W-L.L.** (1979): *Campylobacter enteritis associated with unpasteurized milk.* Am.J.Med., 67: 715-718.
- 6- **Blaser, M.J., LaForce, F.M., Wilson, N.A. and Wang, W-L.L.** (1980): *Reservoirs for human campylobacteriosis.* J.Infect.Dis., 141: 665-669.
- 7- **Blaser, M.J., and Reller, L.B.** (1981): *Campylobacter enteritis.* New England J.Med., 305: 1444-1452.
- 8- **Bolton, F.J., Dawkins, H.C. and Robertson, L.** (1982): *Campylobacter jejuni/coli in abattoirs and butchers shops.* J.Infect., 4:243-245.
- 9- **Bruce, D., Zochowski, W. and Fleming, G.A.** (1980): *Campylobacter infections in cats and dogs.* Vet.Rec., 107:200-201.
- 10- **Butzler, J.P., Dekeyser, P. and Detrain, M.** (1973): *Related vibrio in stools.* J.Pediat., 82:493-495.
- 11- **Cowan, S.T.** (1974): *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria.* Cambridge: University Press.
- 12- **Dekeyser, P., Detrain, M., Butzler, J.P. and Sternon, J.** (1972): *Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool cultures.* J.Infect.Dis., 125: 390-392.
- 13- **Doyle, M.P.** (1981): *Campylobacter fetus subsp.jejuni: an old pathogen of new concern.* J. Food Protect., 44: 480-488,
- 14- **Firehammer, B.D. and Myers, L.L.** (1981): *Campylobacter fetus subsp. jejuni: its possible significance in enteric diseases of calves and lambs.* Am.J.Vet.Res., 42: 918-922.
- 15- **Fleming, M.P.** (1980): *Incidence of campylobacter infections in dogs.* Vet.Rec., 107: 202.
- 16- **Jones, P.H., Willis, A.T., Robinson, D.A., Skirrow, M.B. and Josephs, D.S.** (1981): *Campylobacter enteritis associated with the consumption of free school milk.* J. Hyg., 87: 155-162.

- 17- **King, E.O.** (1957): *Human infections with Vibrio fetus and a closely related vibrio.* J.Infect. Dis., 101:119-128.
- 18- **Luechtefeld, N.W., Cambre, R.C. and Wang, W-L.L.** (1981): *Isolation of Campylobacter fetus subsp.jejuni from zoo animals.* J.Am.Vet.Med.Ass., 179: 1119-1122.
- 19- **Luechtefeld, N.W. and Wang, W-L.L.** (1981): *Campylobacter fetus subsp.jejuni in a turkey processing plant.* J.Clin.Microbiol., 13:266-268.
- 20- **McOrist, S.and Browning, J.W.** (1982): *Carriage of Campylobacter jejuni in healthy and diarrhoic dogs and cats.* Aust.Vet.J., 58: 33-34.
- 21- **Park, C.E., Stankiewicz, Z.K., Lovett, J.and Hunt, J.** (1981): *Incidence of Campylobacter jejuni fresh eviscerated whole market chickens.* Canad. J.Microbiol., 27: 841-842.
- 22- **Prescott, J.F.and Mosch, C.W.** (1981): *Carriage of Campylobacter jejuni in healthy and diarrhoic animals.* Am.J.Vet.Res., 42: 164-165.
- 23- **Robinson, D.A.and Jones, D.M.** (1981): *Milk-borne campylobacter infection.* Br.Med. J., 282: 1374-1376.
- 24- **Skirrow, M.B.** (1977): *Campylobacter enteritis:a "new" disease.* Br.Med.J., 2:9-11.
- 25- **Smibert, R.M.** (1974): *Campylobacter.* (Ed.Buchanan, R.E.and Gibbons, N.E.) in Bergey's manual of determinative bacteriology. Eight Ed.William and Wilkins Co. Baltimore.
- 26- **Smeltzer, T.I.** (1981): *Isolation of Campylobacter jejuni from poultry carcasses.* Aust.Vet.J., 57: 511-512.

Yazı 21.1.1983 günü alınmıştır.

Received on 21.1.1983