

Kırmızı Ette *Campylobacter* Türlerinin Varlığı ve Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi

Özlem TURGAY^{1*}, Hakan BOZDOĞAN²

¹ KSÜ Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş

² KSÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

Geliş Tarihi (Received) : 21.03.2011

Kabul Tarihi (Accepted) : 10.08.2011

ÖZET: Kahramanmaraş'ta değişik kasap ve marketlerden alınan 50 adet yağsız, kuşbaşı kırmızı et örneğinde *Campylobacter* türlerinin varlığı ve antibiyotik dirençliliği incelenmiştir. Çalışmada incelenen, 50 örneğinin 11'inde *Campylobacter* spp. tespit edilmiş ve bunların 3 tanesinin termofilik olduğu belirlenmiştir. *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanan 3 kırmızı et örneğinde 2 adet *Campylobacter jejuni*, 1 adet *C. coli* belirlenmiştir.

İdentifiye edilen *C. jejuni* ve *C. coli* nalidiksik asite (30 µg/ml) dirençlilik göstermiş, sefalotine (30 µg/ml) karşı duyarlı bulunmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada *C. jejuni* ve *C. coli* izolatları ofloksasin, penisilin, tobramisın, amoksisilin, imipenem, vankomisin, ampicilin, levofloksasin, amikasin antibiyotiklerine karşı dirençli, gentamisin, neomisin, eritromisin, kloromfenikol, siproflaksasin ve tetrasiklin'e karşı ise duyarlı olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, antibiyotik dirençliliği, kırmızı et.

Presence of *Campylobacter* Species And Antibiotic Resistance In Beef Samples

ABSTRACT: Presence of *Campylobacter* species and antibiotic resistance were studied in 50 lean, cubed beef samples, purchased from supermarkets and local butchers of Kahramanmaraş. According to the findings, 11 of 50 ground beef samples (22 %) were found to be positive for *Campylobacter* spp. In 3 positive samples, 2 were identified as *C. jejuni* and 1 was *C. coli*, respectively.

C. jejuni and *C. coli*, were resistable to nalidixic acid (30 µg/ml), but susceptible to cephalothine, *C. jejuni* and *C. coli* isolates were resistable to ofloxacin, peniciline, tobramycine, amoxicilline, imipenem, vancomycine, ampicilline, levofloxacin, amikacin. On the other hand *C. jejuni* isolates were susceptible to gentamicin, neomycin, erythromycin, chloromphenicol, ciprofloxacin, tetracycline.

Key Words: *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, antibiotic resistance, beef

GİRİŞ

Gıda endüstrisinde *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella* spp. insanlarda en önemli gıda kaynaklı hastalık oluşturan mikroorganizmalardır (Franchin ve ark., 2005; Ghafir ve ark., 2007). Et ürünlerinde gelişebilen mikroorganizmalar, insanlarda ölüme sonuçlanabilen intoksikasyonlara neden olabilmekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Skirrow, 1994).

Campylobacter' ler mikroaerofilik, gram negatif, eğri, sporsuz, karbonhidratları okside ve fermente edemeyen mikroorganizmalardır. Doğada kanatlı dahil tüm hayvanların bağırsak florasında bulunurlar (Holt ve ark., 1994). Termofilik *Campylobacter* türlerinden *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari*, insanlarda gastroenteritlere yol açabilmektedir (Bryan ve Doyle, 1995; Ghafir ve ark., 2007).

Yapılan çalışmalar kanatlı eti ve ürünlerinin önemli düzeyde termofilik *Campylobacter* ile kontamine olduğunu gösterse de koyun, sığır gibi evcil hayvanların intestinal sistemleri, termofilik *Campylobacter* türleri için uygun bir rezarvar ortamı oluşturmaktadır (Nielsen ve ark., 1997; Stanley ve ark., 1998; Berrang ve Dickens, 2000). Stern ve ark. (1984), yaptıkları çalışmada, 36 sığır karaciğerinden (%5.5), 50 kuzu karkasından (%2.0), ve 40 adet domuz sucuğundan ise (%2.5) oranında *C. jejuni* izole ve identifiye etmişlerdir. Benzer bir çalışmada, 41 sosis, 27 domuz, 30 hindi ve 30 piliç etinden oluşan 120 örnekte, sırasıyla %2.4, 3.7,

20.0 ve 37.5 oranlarında *Campylobacter* türlerine rastlanmıştır (Zanetti ve ark., 1996). Vanderlinde ve ark. (1998), 1063 adet sığır karkası ve 929 paket donmuş muhafaza edilen sığır karkası örneğinde yaptıkları mikrobiyolojik incelemede, 1063 adet sığır karkasından %0.16 oranında *C. jejuni* ve *C. coli*' ye analiz etmişlerdir. İlave olarak evcil hayvanlar üzerinde yapılan diğer bir araştırma kuzu, domuz ve sığırların karaciğerleri ile sakatlarında termofilik *Campylobacter*' in varlığına işaret etmiştir. Örneğin aynı araştırma sonuçlarında, İngiltere'de marketlerde satışı sunulan kuzu, domuz ve sığır karaciğerlerinde sırasıyla %72.9, %71.7 ve %54.2 oranlarında *Campylobacter* türlerinin tespit edildiği bildirmiştir (Kramer ve ark., 2000).

Bu çalışmada, Kahramanmaraş'ın market ve kasaplarında satışı sunulan kırmızı et örneklerinden *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu yapılarak elde edilen izolatların antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Kahramanmaraş'ın farklı semtlerinde bulunan kasap ve süpermarketlerinde tüketime sunulan toplam 50 adet yağsız kuşbaşı kırmızı et örneği materyal olarak kullanılmıştır. Toplanan örnekler 25 g steril poşetler (Whirl-Pak®7.5cmx12.5cm) kullanılarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve

identifikasyonu Food and Drug Administration (FDA) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır (Anon, 2001). Ön zenginleştirme amacıyla 25g örnek tartılarak steril poşetler içerisine konulup, içerisine 100 ml Bolton Selective Enrichment Broth Base (Merck) ilave edilmiş ve 37°C'de 22-48 saat mikroaerofilik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Ön zenginleştirme işleminden hemen sonra, et örnekleri selektif zenginleştirme için 42°C'de 20-44 saat mikroaerofilik olarak inkübe edilmiştir. Mikroaerofilik koşulları oluşturmak için Gas Generating Kits Oxoid (BR 56/60) kullanılmıştır. Selektif zenginleştirme sıvısından daha önce ekim için hazırlanmış olan mCCDA (Modified *Campylobacter* Blood- Free Selective Agar Base, Oxoid, CM 739), besi yerine 0.1 ml ekim yapılmış ve 42°C'de 24-48 saat mikroaerofilik inkübasyona bırakılmıştır. mCCDA besiyerindeki merkezi gri, çevresi siyah renkli, nemli besi yerlerinde dışbükey koloni morfolojisine sahip plaklardan bazıları seçilerek fizyolojik ve biyokimyasal testler için Columbia Agar Base' e (Oxoid CM 331) ekim yapılmıştır. Columbia Agar besiyerinde üreyen Gram (-) şüpheli kolonilere Çizelge 1'de verilen testler uygulanmıştır. Gram (-) şüpheli kolonilere *C. jejuni*'nin identifikasyonunda ayırıcı olan hippurat hidroliz testi yapılmıştır. Hippurat hidroliz testi pozitif veren kolonilere aynı zaman da cephalothin ve nalidiksik asit disk antibiyotik testleri, % 1 glisin ve % 3.5 NaCl içeren besi yerlerinde üreme, TSIA'da H₂S oluşturma, nitrat redüksiyon, 25, 35-37 ve 42°C'de üreme testleri uygulanmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Campylobacter* türlerinin ayırıcılığı için kullanılan identifikasyon testleri

Biyokimyasal Testler	<i>Campylobacter</i> Türleri		
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>
Hippurat hidrolizi	+	-	-
H ₂ S (TSI Agar' da)	-	-	-
25°C 'de Üreme	-	-	-
Nalidiksik Asit (30 µg/ml)	S	S	R
Cephalothin (30 µg/ml)	R	R	R

(+) :Pozitif; (-): Negatif; S: Duyarlı, R: Dirençli.

Elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılık testlerinin belirlenmesi için kanlı agara ekimleri yapılmış ve üreyen kolonilerden öze ile alınarak içerisinde 1 ml Brucella Broth (BD- Diagnostik Systems) bulunan tüplerde süspansiyon edilmiştir. Bakteri süspansiyonundan, Mueller Hinton Agar'a (Merck) 0.1 ml yayılarak ekim yapılmıştır. Petriler 37°C' de 10 dakika kurutulduktan sonra, besiyerinin farklı bölgelerine nalidiksik asit (30 µg/ml) (Bioanalyse) ve sefalotin (30 µg/ml) (Bioanalyse) antibiyotik diskleri konularak, 37°C' de 24 saat mikroaerofilik ortamda inkübe edilmiştir. Diskler etrafında zon oluşumu duyarlılık yönünden pozitif, zon oluşmaması ise dirençlilik yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir (Matthew, 2000).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma kapsamında Kahramanmaraş'ın çeşitli kasap ve marketlerinden alınan kırmızı et örneklerinden izole ve tanımlanmış *C. jejuni* Çizelge 2'de, verilmiştir. Bu kapsamda, alınan 50 yağsız, kuşbaşı kırmızı et örneğinin 11 tanesinin *Campylobacter* spp. ve bu izolatın 3 tanesinin termofilik olduğu tespit edilmiştir. *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanan 3 kırmızı et örneğinin 2'si *C. jejuni*, 1' i ise *C. coli* olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Kahramanmaraş 'ta tüketime sunulan kırmızı etlerin termofilik *Campylobacter* türleri ile kontaminasyonu

Örnek Alınan Birimler	Termofilik <i>Campylobacter</i> türleri		
	Pozitif Örnek Sayısı	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Kasap	3	2	1
Süpermarket ve diğer alışveriş merkezleri	Tespit edilmedi	Tespit edilmedi	Tespit edilmedi
Toplam	50	2	1

Campylobacter izolatlarının identifikasyon işlemine kullanılan antibiyotiklere olan dirençlilik ve duyarlılıkları Çizelge 3'te gösterilmiştir.

C. jejuni ve *C. coli* izolatlarının antibiyotik test sonuçları 22 antibiyotik için değerlendirilmiştir (Çizelge 4).

Biasi ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, 259 domuz karkası örneğinin 9'unda *Campylobacter* türleri izole etmişlerdir. Aksu ve ark. (1997), tarafından yapılan bir çalışmada, tüketime sunulan 25 adet kuzu kıymasının 1' inden ve 25 adet dana kıyma numunesinin ise 2' sinden *C. jejuni* izole edildiği bildirilmiştir. Grau (1988), yaptığı çalışmasında kesimi takiben 65 karkas örneğinden 3 tanesinde *C. coli* tanımlanmıştır. Bu çalışmalar ile bu çalışmada elde edilen bulgular benzer niteliktedir. Vanderlinde ve ark. (1998), 929 paket donmuş muhafaza edilen sığır karkasın üzerinde yaptıkları analizde, 1063 örneğin hiç birinde *C. jejuni* ve *C. coli*' ye rastlamadıklarını bildirmektedirler. Bu farklılığın dondurma işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Osano ve Arimi (1999), inceledikleri 50 adet sığır eti örneğinden 4 tanesinde *C. jejuni* izole ettiklerini kaydetmişlerdir ve bulgularımızla benzer niteliktedir.

Yapılan değişik çalışmalarda *Campylobacter* izolatları eritromisin, neomisin ve kloromfenikole tam duyarlılık göstermiştir (Karmalı, 1981; Altmayer, 1985; Diker ve Yardımcı, 1987; Schroth, 1990; Cabrita, 1992; Kaijser, 1994). Bizim çalışmamızda *C. coli* izolatları, neomisin ve kloromfenikole karşı duyarlı olarak bulunmuştur.

Çizelge 3. *Campylobacter* spp. izolatlarının identifikasyon işleminde kullanılan antibiyotiklere olan dirençlilik ve duyarlılıkları

	<i>Campylobacter</i> spp.		<i>C.jejuni</i>		<i>C. coli</i>	
	Az Dirençli	Dirençli	Az Dirençli	Dirençli	Az Dirençli	Dirençli
Nalidiksik Asit (n:11)	4	7	1	1	0	1
Sefalotin (n: 11)	0	11	0	2	0	1

Az Dirençli; ≤ 13 ; Dirençli: 13-18; Duyarlı ≥ 18 Zon çapı (mm).

Çizelge 4. Kırmızı etten izole edilen *C. jejuni* ve *C. Coli* izolatlarının antibiyotik test sonuçları

Antibiyotikler	<i>C.jejuni</i>			<i>C. coli</i>		
	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
	Sayı	Sayı	Sayı	Sayı	Sayı	Sayı
Amikasin	-	-	RR	-	-	R
Amoksilin	-	-	RR	-	-	R
Amfisilin/Sulbaktam(SAM)	-	-	RR	-	-	R
Sefepim (FEP)	-	s	R	-	s	R
Sefuroksim (CXM)	-	-	RR	-	-	R
Kloromfenikol (C)	SS	-	-	-	s	-
Siprofloksazin (CIP)	SS	-	-	S	-	-
Eritromisin (E)	SS	-	-	S	-	-
Gentamisin (CN)	SS	-	-	S	-	-
Imipenem (IPM)	-	-	RR	-	-	R
Levofloksasin (LEV)	-	-	RR	-	-	R
Neomisin (N)	SS	-	-	-	s	-
Nitrofurantoin (F)	-	ss	-	S	-	-
Ofloksasin (OFX)	-	-	RR	-	-	R
Penisillin G (P)	-	-	RR	-	-	R
Piperasillin (PRL)	S	s	-	S	s	-
Rifamisin (RF)	-	-	RR	-	-	R
Spectinomisin (SPT)	-	ss	-	-	s	-
Teicoplanin (TEC)	-	-	RR	-	-	R
Tetrasiklin (TE)	S	s	-	S	s	-
Tobramisin (TOB)	-	-	RR	-	-	R
Vankomisin (VA)	-	-	RR	-	-	R

S: Tek örnek için duyarlı; SS: iki örnek için duyarlı; s: bir örnek için orta duyarlı, ss: iki örnek için orta duyarlı ; R:bir örnek için dirençli; RR: iki örnek için dirençli.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Et ve et ürünlerinin kesim işleminden tüketiciye sunuluncaya kadarki geçirdiği tüm aşamalar, HACCP ve GMP gibi gıda güvenlik kontrol sistemlerinin belirtmiş olduğu hijyen kuralları esas alınarak yapılmalıdır. Et ürünlerinin halka arz edildiği satış noktalarında safra kesesi, dalak ve barsak gibi iç organlar, et karkası ile temas etmeyen farklı birimlerde bulunmalı, böylelikle çapraz kontaminasyonun önüne geçilmelidir. Çapraz kontaminasyonun önüne geçebilmek için gıda işletmelerinin temizliğinde asidik dezenfektan kullanımının yararlı olabileceği önerilmektedir, çünkü *Campylobacter* türleri pH 4.0 değeri altında inaktive olmaktadır. Ayrıca kasap ve süpermarketlerde çalışan görevlilerin, işyeri ve bireysel hijyen kurallarına azami ölçüde uymaları da alınacak önlemler arasındadır. Özellikle kasap olarak çalışan ve çalıştırılan personelin, sayılan tüm bu sanitasyon kurallarına çok daha fazla özen göstermesi gerekmektedir. Antibiyotik kullanımında son derece

dikkatli olunmalı, kar-zarar ilişkisi mutlaka göz önüne alınarak, insan ve veteriner antibiyotik preparatlarının kullanımında uyulması gereken kurallara dikkat edilmelidir. Antibiyotik dirençlilik mekanizması ile ilgili geniş kapsamlı çalışmalara ağırlık verilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Hakan BOZDOĞAN'ın yüksek lisans çalışmasından özetlenmiş olup, KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı (Proje no: 2008/1-25) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Anonim, 2001. Food and Drug Administration (FDA), Bacteriological Analytical Manual (BAM). Isolation of *Campylobacter* Species from Food and Water, Chapter 7.

- Aksu, H., Bostan, K., Aydın, A., 1997. İstanbul'da tüketime sunulan ham kıymalarda *Campylobacter jejuni*'nin mevcudiyeti üzerine bir araştırma. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg., 8(1-2) : 102-104.
- Altmayer, M., 1985. Vorkommen und verbreitung von *Campylobacter jejuni/coli* in der jungmastgeflügelproduktion Vet. Med. Diss., München.
- Berrang, M.E., Dickens, J.A., 2000. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. Appl. Poultry Sci., 9:43-47.
- Biasi, R.S., de Macedo, R.E.F, Malaquias, M.A.S., Franchin, P.R. 2011. Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. Food Control 22: 702-707.
- Blaser, M. J., Taylor, D., Feldman, R. A. 1983. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. Epidemiol. Rev., 5: 157-176.
- Bryan, F. L., Doyle, M. P. 1995. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. J.Food Prot., 58(3): 326-344.
- Cabrira, J., Rodrigues, J., Bragança, F., Morgado, C., Pires, I., Penha, Goncalves, A., 1992. Prevalence, biotypes, plasmid profile and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from wild and domestic animals from northeast Portugal. J. Appl. Bacteriol., 73: 279-285.
- Diker, K.S., Yardımcı, H., 1987. Tavuklarda *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu üzerine çalışmalar. Tübitak VHAG Proje No 671, Ankara.
- Franchin, P. R., Aidoo, K. E., Batista, C. R. V. 2005. Sources of poultry meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. Brazilian J. Micr., 36: 157-162.
- Ghafir, Y., China, B., Dierick, K., De Zutter, L., Daube, G. A. 2007. Seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium. International J. Food Micr., 116: 111-120.
- Grau, F., 1998. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter hyointestinalis* in the intestinal tract and on the carcasses of calves and cattle. J. Food Prot., 51(11) : 857-861.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Kaijser, B., Lindblom, G.B., Sjögren, E., 1994. Antibiotic sensitivity pattern of *Campylobacter* in Sweden during 15 years.-Rapid emergence of qumolone resistance during the last three years. Report of WHO Consultation on Epidemiology and Control of Campylobacteriosis in Animals and Humans, 25-27 April, Bilthoven.
- Karmalı, M.A., De Grandis, S., Fleming, P.C., 1981. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* with special reference to resistance patterns of Canadian isolates. Antimicrob. Agents Chemother., 19: 593-597.
- Kramer, J.M., Frost, J.A., Bolton, F.J., Wareing, D.R.A., 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. J. Food Protect., 63: 1654-1659.
- Matthew, A.W., 2000. National Committee for Clinical Laboratory Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test, Approved Standard, N.C.C.L.S. Inc., Villanova, P.A.,131-135.
- Nielsen, E.M., Engberg, J., Madsen, M., 1997. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 19 (1):47-56.
- Osano, O., Arimi, S.M., 1999. Retail poultry and meat as sources of *Campylobacter jejuni*, East African Med. J., 76 (3): 141-143.
- Schroth, S., 1990. Vorkommen un Verarbeitung thermophiler *Campylobacter* species bei Puten in Baden-Württemberg., Vet. Med. Diss., München.
- Skirrow, M.B. 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. J. Comparative Pathol., 111:113-149.
- Stanley, K.N., Wallace, J.S., Currie, J.E., Diggle, P.J., Jones, K., 1998. Seasonal variation of thermophilic *campylobacters* in lambs at slaughter. J. Appl. Microbiol., 84: 1111-1116.
- Stern, N.J., Green, S. S., Thaker, N., Krout, D.J., Chiu, J., 1984. Recovery of *Campylobacter jejuni* from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter. J. Food Protect., 55: 514-517.
- Vanderlinde, P.B., Shay, B., Murray, J., 1998. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. J. Food Prot., 61 (4):437-443.
- Zanetti, F., Varoli, O., Stampi, S., Deluca, G., 1996. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. Int. J. Food Microbiol., 33: 315-321.