



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2009: 23 (2): 95 - 100
http://www.fusabil.org

Siğır ve Koyun Kıymalarında *Arcobacter* Türlerinin Bulunma Sıklıklarının Multipleks PCR Tekniği İle Belirlenmesi

Nurhan ERTAŞ¹
Yusuf DOĞRUER²

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE

²Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

Bu çalışmada, Kayseri ilindeki farklı satış noktalarından alınan siğır ve koyun kıyması örneklerinde *Arcobacter* türlerinin varlığı araştırıldı. Klasik kültür yöntemleri ile izole edilen kültürler multiplex Polimerase Chain Reaction (m PCR) tekniği ile tür düzeyinde tanımlandı.

İncelenen 200 kıyma numunesinin 85'inde *Arcobacter* spp. izole edildi. İzolatlara uygulanan mPCR işlemi sonucunda 85 pozitif örneğin 79'u (% 92,9) *A. butzleri*, 6'sı (% 7,1) *A. skirrowi* olarak tespit edildi. 100 adet siğır kıyma örneğinin 40'ı (% 40) *A. butzleri*, 2'si (% 2) *A. skirrowi* olarak tanımlandı. Koyun kıyma örneğinin 39'u (% 39) *A. butzleri* olarak, 4'ü (% 4) *A. skirrowi* olarak tanımlandı.

Sonuç olarak Kayseri ilinde satışa sunulan kıymaların *Arcobacter* türlerinden başta *A. butzleri* olmak üzere *A. skirrowi* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. *Arcobacter* türlerinin, özellikle *A. butzleri*'nin insanlarda enteritis, kronik diyare ve septisemi vakalarından izole edilmesi nedeni ile kıymalardaki *A. butzleri* oranı halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olabileceği belirlendi.

Anahtar Kelimeler : Kıyma, *Arcobacter* spp., izolasyon, tanımlama, mPCR

Prevalence of *Arcobacter* Species in Ground Meat From Cattle and Sheep Using Multiplex PCR Techniques

In this study, presence of *Arcobacter* species in ground meat from cattle and sheep in Kayseri province (Turkey) were investigated. Identification of *Arcobacter* species in isolates of ground meat from cattle and sheep using Multiplex PCR (mPCR) techniques were carried out.

A total of 200 samples (100 cattle ground meat and 100 sheep ground meat) were examined. The samples were homogenized with distilled water and incubated in *Arcobacter* Enrichment Media (AZB) at 30 °C for 48 hours. After the incubation in AZB, grown suspected cultures were inoculated into agar using membrane Filtration Techniques.

Eighty-five out of 200 meat samples were isolated *Arcobacter* spp. positive. Of these positive samples, 79 (92.9%) *A. butzleri* and 6 (7.1%) *A. skirrow* were detected. Forty out of 100 cattle meat ground were identified with *A. butzleri* (40%) and only 2 (2%) with *A. skirrow*, whereas 39 (39%) with *A. butzleri* and 4 (4%) with *A. skirrow* in ground sheep meat samples.

In conclusion, marketed ground meat samples in Kayseri province were contaminated with *Arcobacter*, particularly very often with *A. butzleri* but less often with *A. skirrowi*. It was also concluded that *Arcobacter* species particularly *A. butzleri* may have a risk factor for human health with the fact that *A. butzleri* causes enteritis, chronic diarrhea, and septicemia in humans.

Key Words: Ground meat, *Arcobacter* spp., isolation, identification, mPCR

Geliş Tarihi : 09.01.2009
Kabul Tarihi : 03.02.2009

Yazışma Adresi Correspondence

Nurhan ERTAŞ

Erciyes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Besin
Hijyeni Ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
Kayseri - TÜRKİYE

nertas@erciyes.edu.tr

Giriş

Önceleri aerotolerant *Campylobacter* olarak bilinen *Arcobacter*'ler ilk kez 1970'li yılların sonlarında abort siğır ve domuz fetüslerinden izole edilmiştir (1-6).

Campylobacteriaceae generi içerisinde aerotolerant *Campylobacter* olarak adlandırılan *Arcobacter*'lerin ilk izolasyonlarında mikroaerofilik ortam gerektirmelerine rağmen aerob ortamda da üreyebilmeleri (7-14), 15–30 °C sıcaklıkları arasında gelişebilmeleri (1, 15-18) ve yağ asidi profillerinin farklı olması dolayısı ile *Campylobacter*'lerden ayrıldıkları bildirilmiştir (12, 19-22).

Campylobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Arcobacter*'ler, Gram negatif, genellikle S şekilli, (19, 23-25) çomakçık, spiral veya sarmal şekilli, sporsuz ve kapsülsüz mikroorganizmalardır (21, 26). Tek bir polar ya da iki ucuna yerleşmiş kılıfsız polar flagella ile aktif hareketlidirler (25, 27, 28).

Arcobacter generine bağlı türler daha çok kanatlı, siğır ve domuz eti gibi hayvansal kaynaklı besinlerden izole edilmektedir (12,29,30). *A. cryaephilus*, *A. skirrowi* ve *A. butzleri* çiğ ya da az pişmiş hayvansal orjinli besinler ve kontamine sular aracılığı ile insanlara bulaşmaktadır (2, 3, 22, 27, 31).

Arcobacter türleri klinik olarak genellikle diyareli yetişkin ve çocuklardan izole edilmektedir (27, 32, 33). Bu türlerden *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* ve *A. Skirrowi* hem

sağlıklı hem de klinik olarak hasta hayvanlarda ve insanlarda tespit edilmiştir. Bu üç tür insanlarda gastroenteritis ve septicemiye neden olurken hayvanlarda, gastroenteritis ve abortlara neden olurlar (1-3,16, 34-36).

Bu çalışmada, Kayseri ilinde tüketime sunulan koyun ve sığır kıymalarında *Arcobacter* türlerinin varlığının saptanması ve elde edilen izolatların multiplex Polimerase Chain Reaction (m-PCR) tekniği ile tür düzeyinde identifikasyonu yapılması, kıyma numunelerinin birden fazla suşla kontamine olup olmadığının tespit edilmesi ve bu mikroorganizmanın halk sağlığı açısından oluşturabileceği risklerin ortaya konulması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Numuneler: Çalışmada, Kayseri ilinde, farklı perakende satış noktalarından Ocak-Mart 2007 tarihleri arasında parakende satış merkezlerinden ağız kilitli stomacher poşetlerine alınan, 200'er gramlık, 100 adet dana kıyma ve 100 adet koyun kıyma olmak üzere toplam 200 adet kıyma örneği incelendi. Numuneler, soğuk zincirde laboratuara getirildi ve bekletmeden incelemeye alındı.

Besiyerleri: *Arcobacter* izolasyonu amacı ile cefoperazone–amphotericin–teicoplanin (CAT) selective supplement (Oxoid, SR174E) içeren *Arcobacter* Enrichment Broth (Oxoid CM965), %5'lik defibrine koyun kanı içeren kanlı agar (Merck 1.10886.0500) ve mikroaerofilik ortam sağlamak için gaz jenerasyon kiti (Oxoid CN0025A) kullanıldı (16).

Standart Suş: Çalışmada izolasyon işleminin her aşamasında; *Arcobacter butzleri* LMG 10828, *Arcobacter cryaerophilus* LMG 9904, *Arcobacter skirrowii* LMG 6621 (LMG Bakteriyel Kültür Koleksiyonu, Ghent Üniversitesi, Ghent, Belgium) kontrol suşları olarak kullanıldı.

Primerler: Çalışmada elde edilen izolatlar beş adet primer (Tablo 1) kullanılarak m-PCR tekniği ile incelenmiştir (ARCO, BUTZ, SKIR, CRY1 ve CRY2). ARCO-BUTZ primerleri bütün *A. butzleri*'lerin, ARCO-SKIR primerleri *A. skirrowii*'nin, CRY1 ve CRY2 primerleri ise *A. cryaerophilus* 1 ve *A. cryaerophilus* 2'nin identifikasyonu için kullanıldı (9). Çalışmada ARCO, BUTZ, SKIR, CRY1 ve CRY2 olmak üzere beş adet primer kullanılmıştır. Primerlere ilişkin ayrıntılı bilgi tablo .1'de verilmiştir.

***Arcobacter* İzolasyonu:** *Arcobacter* spp. izolasyonu amacı ile 25 g kıyma numunesi, steril plastik poşet içerisine tartıldı ve numune üzerine 225 ml steril distile su ilave edilerek karıştırıcıda (Stomacher-Bagmixer) yaklaşık 2 dakika süreyle homojenize edildi. Daha sonra homojenattan aseptik şartlarda 10 ml alınarak içerisinde çift etkili 10 ml AZB (Oxoid CM965) bulunan tüplere ilave edildi. Tüpler vorteks kullanılarak homojen hale getirildi. Homojenizasyon sağlandıktan sonra tüpler mikroaerofilik şartlarda 30 °C'de 48 saat ön zenginleştirme için inkübe edildi. Ön zenginleştirme işleminden sonra AZB'de üreyen şüpheli kültürler, selüloz asetat membran filtreler

kullanılarak kanlı agara (% 5 steril defibrine koyun kanı içeren) inkübe edildi ve membran filtrasyon tekniğine göre ekim yapıldı (37).

Membran Filtrasyon Tekniği: Çalışmada, 47 mm büyüklüğe ve 0,45 µm gözenek çapına sahip selüloz asetat membran filtreler (Sartorius AG 37070) aseptik koşullarda steril pens yardımı ile kanlı agar üzerine yerleştirildi. Mikroaerofilik koşullarda AZB'de 48 saat ön zenginleştirme işlemi için inkübasyona bırakılan şüpheli kültürün bir kısmı pastör pipeti yardımı ile alındı. *Arcobacter* türlerinin hareket yeteneklerini kullanarak membran filtrelerden geçmesi prensibine dayanarak pastör pipeti yardımı ile alınan şüpheli kültürden 5–8 damla kanlı agar üzerine yerleştirilmiş bulunan membran filtreler üzerine farklı noktalara damlatıldı ve aerob olarak oda ısısında yaklaşık 45 dakika bekletildi. Bu aşamadan sonra aseptik koşullar altında steril bir pens yardımı ile filtreler uzaklaştırıldı. İnkübasyon yapılmış kanlı agarlar steril öze aracılığı ile çizme plak yöntemi uygulandıktan sonra aerob koşullarda 30 °C'de 2–7 gün inkübe edildi (37).

İzolatların Fenotipik Karakterizasyonu: Kanlı agarda üreyen *Arcobacter* şüpheli kolonilerin morfolojik yapısı Gram boyama yöntemi ile saptanırken, hareketli olup olmadıkları hareket muayenesi yapılarak tespit edildi. İzole edilen etkenin identifikasyonu amacıyla, katalaz, oksidaz, nitrat redüksiyon, üreaz, hippurat, nalidiksik asit ve sefalotine duyarlılık testleri, Mc Conkey agarda üreyebilme 37 ve 42 °C'de üreyebilme testleri yapıldı (34, 38). *Arcobacter* olduğu düşünölen izolatlar m-PCR ile tür düzeyinde identifiye edildi.

DNA Ekstraksiyonu: Kanlı agarda üreyen şüpheli 8-10 koloni öze yardımı ile DNase/RNase free ependrofların içerisindeki 1 ml steril distile su içerisine çözöndürölüp vorteks ile karıştırılarak homojen hale getirildi. Homojenize edilen numuneler 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj işlemine tabi tutuldu. Santrifüj sonrası üstteki sıvı atıldı. Ependrof tüpünün dibinde kalan çöküntü üzerine 500 µl steril distile su ilave edilerek süspansiyon edildi. Süspansiyon 100 °C'de 10 dakika kaynatıldı. Kaynatılan örneklerin 13000 rpm'de 10 dakika santifüjü sonunda üst kısımda toplanan DNA süspansiyonu m-PCR'da kullanıldı (9).

Multipleks PCR: m-PCR'da primer olarak *Arcobacter* cinsindeki bakterilerin 16 S RNA gen bölgesinden büyüklüğü 257 ile 654 bp arasında değişen parçaları amplifiye eden tür spesifik primerler kullanıldı (Tablo1). Reaksiyon karışımı final konsantrasyonu 50 µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı; 2 µl DNA örneği, 5 µl 10x PCR buffer (Vivantis), 1.25 mM MgCl₂ (Vivantis), 0.2 mM dNTP Mix (Vivantis), 50 pmol ARCO, BUTZ, CRY1, CRY2 primerleri, 25 pmol SKIR primeri, 1.5 U Taq polimerase (Vivantis) şeklinde hazırlandı (9). Karışımın her biri 200 µl'lik ısıya dayanıklı DNase-RNase free özel PCR tüplerine 48 µl reaksiyon karışımı 2µl DNA örneği içerecek şekilde dağıtıldı. m-PCR reaksiyonu için tüpler thermal cyclere yerleştirildi. DNA amplifikasyonu, 94 °C'de 2 dk ön denatürasyon işlemi uygulandıktan sonra 94 °C'de 45 s, 61 °C'de 45 s ve 72 °C'de 30 s olmak üzere

toplam 32 siklusta gerçekleştirildi (9). Amplifikasyon sonucunda elde edilen PCR ürünleri % 1,5'lik agaroz jelde 90 V gerilimde 45 dk elektroforez (Thermo EC 330)

işlemine tabi tutulduktan sonra, UVP jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülendi (9).

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Primerlerin Kaynakları Dizilimi

	Primer	Primer Dizilimi	Gen Bankası Erisim Numarası	Kaynak
16S rDNA	ARCO	5'-CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC-3'	L14626	Houf ve ark. 2000
<i>A. butzleri</i>	BUTZ	5'-CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATGA-3'	L14626	Houf ve ark. 2000
16S rDNA	ARCO	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC-3'	L14625	Houf ve ark. 2000
<i>A. skirrowii</i>	SKIR	5'-GGC GAT TTA CTG GAA CAC A-3'	L14625	Houf ve ark. 2000
<i>A. cryaerophilus</i>	CRY1	5'-TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA-3'	X80383	Houf ve ark. 2000
23S rDNA	CRY2	5'-AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC-3'	X80383	Houf ve ark. 2000

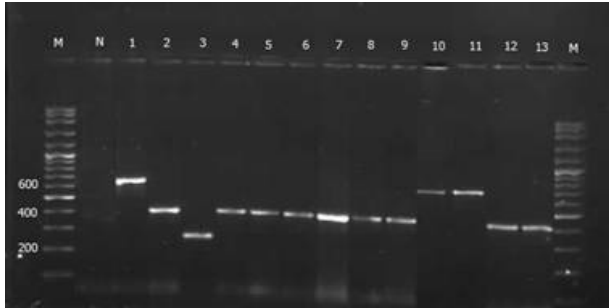
İstatistiksel Metot: Çalışmada sığır ve koyun kıymalarında *Arcobacter* spp., *A. butzleri*'nin varlığı Pearson Chi-Square (χ^2) testi ile, *A. skirrowii*'nin varlığı ise Fisher's Exact Test ile değerlendirilmiştir (39).

Bulgular

Çalışmada incelenen bütün izolatlar 30° C'de mikroaerofilik ortamda üreme, oksidaz, katalaz, nitrat redüksiyon testleri pozitif, hippurat hidroliz ve üreaz testleri ise negatif sonuç veren kolonilerden seçildi. Elde edilen 85 izolatın tamamı nalidiksik asite duyarlı olarak belirlenirken, 79 izolat ise Sefalotine dirençli olarak tespit edildi.

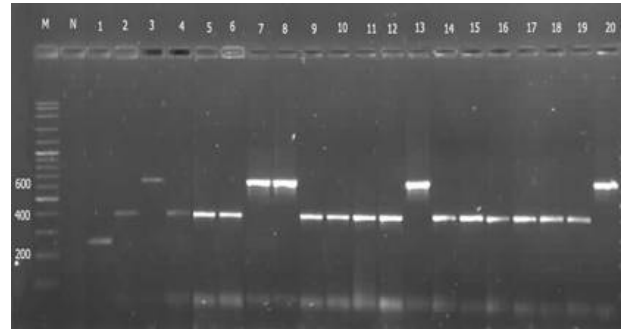
Çalışmada incelenen 200 kıyım numunesinin 85'inde (% 42,5) *Arcobacter* türleri izole edildi. 85 pozitif örneğin 79'u (% 92,9) *A. butzleri*, 6'sı (% 7,1) *A. skirrowii* olarak belirlendi.

m-PCR Sonucu: Çalışmada, mPCR reaksiyonu sonucunda yapılan agaroz jel elektroforezinde *A. cryaerophilus* için 257 bp (base pair), *A. butzleri* için 401 bp, *A. skirrowii* için ise 641 bp büyüklüğünde bandların oluşumu beklendi. mPCR işlemi sonucunda 100 adet sığır kıyım örneğinin 40'ı (% 40) *A. butzleri*, 2'si (% 2) *A. skirrowii* olarak tanımlandı (Şekil 1).



Şekil 1. Sığır Kıyım Numunelerinde mPCR Ürünleri (%1,5 Agaroz Jel), M: Marker, N: Negatif kontrol, 1 nolu band: *A. skirrowii* için pozitif kontrol, 2 nolu band: *A. butzleri* için pozitif kontrol, 3 nolu band: *A. cryaerophilus* için pozitif kontrol, 4-9 nolu bandlar: *A. butzleri* pozitif numuneler, 10-11 nolu bandlar: *A. skirrowii* pozitif numuneler, 12-13 nolu bandlar: *A. butzleri* pozitif numuneler.

Koyun kıyım numunelerinden elde edilen izolatların m-PCR işlemi uygulanmasından sonra uygulanan agaroz jel elektroforezinde ise 39'u (% 39) *A. butzleri* olarak, 4'ü (% 4) *A. skirrowii* olarak tanımlandı (Şekil 2).



Şekil 2. Koyun Kıyım Numunelerinde mPCR Ürünleri (%1,5 Agaroz Jel), M: Marker, N: Negatif kontrol, 1 nolu band: *A. cryaerophilus* için pozitif kontrol, 2 nolu band: *A. butzleri* için pozitif kontrol, 3 nolu band: *A. skirrowii* için pozitif kontrol, 4-5 nolu bandlar: *A. butzleri* pozitif numuneler, 7-8 nolu bandlar: *A. skirrowii* pozitif numuneler, 9-12 nolu bandlar: *A. butzleri* pozitif numuneler, 13 nolu band: *A. skirrowii* pozitif numune, 14-19 nolu bandlar: *A. butzleri* pozitif numuneler, 20 nolu band: *A. skirrowii* pozitif numune.

Kıyım Numunelerinde *Arcobacter* spp.

Prevalansı: Çalışmada incelenen 200 kıyım numunesinin 85'inde (% 42,5) *Arcobacter* türleri izole edildi. 85 pozitif örneğin 79'u (% 92,9) *A. butzleri*, 6'sı (% 7,1) *A. skirrowii* olarak belirlendi (Tablo 2). *A. butzleri*, sığır kıyım numunelerinin 40'undan (% 40), koyun kıyım numunesinin 39'undan (% 39) izole edilirken, *A. skirrowii* ise, sığır kıyım numunelerinin 2'sinden (% 2), koyun kıyım numunesinin 4'ünden (% 4) izole edildi (Tablo 3).

Tablo 2. *Arcobacter* Pozitif Numunelerdeki *A. butzleri* ve *A. skirrowii*'nin Bulunma Sıklığı

<i>Arcobacter</i> spp. pozitif numune sayısı	<i>A. butzleri</i> pozitif numune sayısı	%	<i>A. skirrowii</i> pozitif numune sayısı	%	(χ^2)
85	79	92,9	6	7,1	125,39*

*p<0,001((Pearson Chi-Square)

Tablo 3. Sığır ve Koyun Kıymalarında İdentifiye Edilen *Arcobacter* Türleri

Numune		Pozitif Örnekler								
		<i>Arcobacter</i> spp.		(χ^2)	<i>A. butzleri</i>		(χ^2)	<i>A. skirrowi</i>		(χ^2)
		Sayısı	%		Sayısı	%		Sayısı	%	
Sığır kıyma	(N= 100)	42	42	0,020*	40	95,2	0,021*	2	4,8	0,687**
Koyun kıyma	(N= 100)	43	43		39	90,6		4	9,4	
Total	(N= 200)	85	42,5		79	92,9		6	7,1	

* $p > 0,05$ (Pearson Chi-Square)** $p < 0,05$ (Fisher's Exact Test)**Tartışma**

İnsan ve hayvanlarda bazı önemli hastalıkların nedeni olan *Arcobacter* türleri için kanatlı etleri, kırmızı etler ve süt gibi hayvansal gıdalar ile su en önemli bulaşma kaynakları olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmada, *Arcobacter* türlerinin izolasyonunda Atabay ve ark. (1) tarafından önerilen CAT saplemantli AZB besiyerinden yararlanıldı. Numuneler ön zenginleştirme amacı ile AZB'ye inoküle edildikten sonra inkübasyona alındı. İnkübasyon sonrası ön zenginleştirmede üreyen şüpheli kültürden membran filtrasyon tekniği kullanılarak kanlı agarda etkenin izolasyonu gerçekleştirildi.

Çalışmada incelenen 200 adet kıyma numunesinin 85'inde (% 42,5) *Arcobacter* spp. izole edildi. Elde edilen izolatlardan yapılan mPCR reaksiyonu sonucunda koyun kıymalarının % 39'undan *A. butzleri*, % 4'ünden *A. skirrowi*, sığır kıymalarının % 40'undan *A. butzleri*, % 2'sinden *A. skirrowi* identifiye edildi. Araştırmada, sığır ve koyun kıymalarında *Arcobacter* spp.'nin prevalanslarının istatistiksel analizinde iki grup kıyma arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlendi ($p > 0,05$) (Tablo 3).

Koyun ve sığır kıyma numunelerinde *A. butzleri* dağılımındaki fark istatistiksel yönden önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Ancak, kıyma numunelerinde *A. skirrowi* ve *A. butzleri* nin izolasyon sıklıkları oransal açıdan değerlendirildiğinde; *A. butzleri*'nin daha yoğun olarak izole edilmesi nedeni ile diğerlerinden belirgin bir farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Belirlenen bu farklılık istatistiksel olarak ta önemli bulunmuştur ($p < 0,001$). *A. cryaerophilus* ise numunelerin hiçbirinden izole edilememiştir.

Sığır ve koyun kıymaları kendi içlerinde *Arcobacter* türlerinin izolasyon oranları bakımından ayrı ayrı değerlendirildiğinde, her iki grup kıyma numunelerinde de *A. butzleri* ve *A. skirrowi* varlığı açısından istatistiksel fark önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Yapılan araştırmalarda (10, 28, 34, 40) *A. skirrowi* ve özellikle *A. cryaerophilus*'un antimikrobiyal maddelere karşı oldukça duyarlı olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada *A. skirrowi*'nin izolasyon sıklığının az olması, *A. cryaerophilus*'un ise izole edilememesinin muhtemelen bu mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere olan duyarlılıkları ile açıklanabilir.

Ayrıca, *A. skirrowi*'nin kıyma numunelerindeki izolasyon oranının düşük olması, etkenin etlerdeki prevalansının düşük olması ile de ifade edilebilir. Bu

durum bazı araştırmacıların (14, 37, 40) bulgularıyla uyum göstermektedir. Kabeya ve ark. (40) *A. skirrowi*'nin düşük izolasyon sıklığını, ette bulunan *Arcobacter butzleri* türleri tarafından kompetitif inhibisyona maruz kalmasına bağlamıştır.

Koyun kıymalarından izole edilen *A. skirrowi* oranı (% 4) sığır kıymalarındaki orana (% 2) göre yüzde olarak farklılık göstermesine karşın (Tablo 3) bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$).

Bu araştırmada, *A. skirrowi* türünün sadece bir satış noktasındaki sığır ve koyun kıymalarından izole edilmesinin nedeni, bazı araştırmacılar (4, 41, 42) tarafından vurgulandığı üzere, olasılıkla gıda işletmesindeki hijyenik uygulama yetersiz olması ve buna bağlı olarak ürünlerin çapraz kontaminasyona maruz kalması, hayvan sürüsünde etkenin endemik olarak bulunabilmesi, hayvanların temin edildiği çiftliklerin etken ile bulaşma ihtimali nin olması gibi nedenlerle ilişkilendirilebilir.

Besin işletmelerinde et ve et ürünleri tüketiciye ulaşana kadar buzdolabı sıcaklığında depolanmaktadır. Olumsuz depolama koşullarında, sığır ve koyun etlerinin birlikte muhafaza edildiği ortamlarda çapraz kontaminasyonlar gerçekleşebilir. Villarruel-Lopez ve ark. (43), sığır ve domuz etinin aynı ortamda, uygunsuz depolama koşullarında, birlikte bulundurulduklarında domuz ve sığır etleri arasında *Arcobacter* türlerinin çapraz kontaminasyon riskinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumlara ilave olarak mezbahanelerde, kesim işlemi sonrası ve sonrasında hijyenik koşullara uyulmamasına bağlı olarak karkasın fekal kontaminasyona maruz kalmasının da karkasın *Arcobacter* türleri ile kontaminasyonunun bir nedeni olabileceğini de vurgulamak gerekmektedir (12, 13, 44). Villarruel-Lopez ve ark. (43) inceledikleri 45 adet sığır eti numunesinin % 28,8'inden *Arcobacter* türlerini izole etmişlerdir. Çalışmada elde edilen izolatlara uygulanan PCR reaksiyonu sonucunda izolatların % 80'i *A. butzleri*, % 4'ü ise *A. skirrowi* olarak identifiye edilirken, *A. cryaerophilus* identifiye edilememiştir. Rivas ve ark. (4) sığır etinin % 22'inde ve kuzu etlerinin % 15'inde *A. butzleri* saptamışlardır. Scullion ve ark. (45) 108 adet sığır etinin 37'sinde (% 34) *Arcobacter* türlerini tespit etmişlerdir. Araştırmada sığır eti numunelerinden elde edilen izolatlardan yapılan PCR sonucunda, 22'sinin (% 59,4) *A. butzleri*, 17'sinin (% 45,9) *A. cryaerophilus* ve 2'sinin (% 5,4) ise *A. skirrowi* olduğu belirlenmiştir.

Kabeya ve ark. (40), 90 adet sığır eti, 100 adet domuz eti ve 100 adet tavuk eti olmak üzere toplam 290 adet et numunesini *Arcobacter* türlerinin varlığı yönünden incelemişlerdir. Araştırmacılar, inceledikleri sığır eti numunesinin % 2,2'sinden *Arcobacter* izole etmişlerdir. Elde edilen izolatlara uygulanan PCR reaksiyonu sonucunda, sığır etindeki izolatlardan sadece *A. butzleri* identifiye edilmiştir.

Aydın ve ark. (46) 27 adet sığır kıyma numunesi kullanmış ve numunelerin 10'unda (% 37) *Arcobacter* türlerini izole etmişlerdir. İzolatlarla yapılan mPCR ve ERIC-PCR'la kıyma numunelerinin 9'unda (% 33,3) *A. butzleri*, 1'inde (% 3,7) ise *A. cryaerophilus* identifiye etmişlerdir. Buna karşın Öngör ve ark. (31) 97 adet sığır eti numunesinin 5 (% 5)'den *A. butzleri* identifiye etmişlerdir.

Bazı araştırmacılar (4, 31, 43, 45) tarafından yapılan çalışmalarda parça et numunesi kullanılmasına karşın bu çalışmada materyal olarak kıyma numunesi kullanılmıştır. Kıyma, parça etlere göre bozulmaya daha elverişlidir. Etin yüzeyinde normal olarak bulunan mikroorganizmalar, kıymanın hazırlanmasında özellikle çekme ve karıştırma esnasında ürünün her tarafına dağılarak ve uygun koşullarda gelişerek ürünün bozulmasına neden olur. Dolayısı ile kıyma numunelerinde et numunelerine göre kontaminasyon riskinin daha fazla olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmada *Arcobacter* türlerinin prevalansının yüksek

olması araştırmada kullanılan materyalin kıyma olmasına bağlanabilir. Aydın ve ark. (46) tarafından yapılan araştırmada bulgularımızı desteklemektedir.

Sonuç olarak, Kayseri ilinde satışa sunulan kıymalarda *Arcobacter* türlerinden *A. butzleri* yaygın olarak *A. skirrowi* ise seyrek olarak belirlenmiştir. Bu araştırma ile Kayseri ilinde satışa sunulan kıyma numunelerinin *A. butzleri* için önemli bir bulaşma kaynağı olabileceği, *Arcobacter* türlerinin özellikle *A. butzleri*'nin insanlarda enteritis, kronik diyare ve septisemi vakalarından izole edilmesi nedeni ile Kayseri ilindeki perakende satış noktalarında alınan kıymalarda belirlenen *A. butzleri* görülme sıklığının, özellikle çiğ ve az pişmiş bir şekilde tüketilmesi sonucunda tüketici sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olabileceği gerçeği vurgulanabilir.

Besinlerin etken ile kontaminasyonunda, hammadde-pazarlama zincirinde çok sayıda bulaşma kaynağı olabilir. Bu nedenle etkenin bulaşma kaynaklarının belirlenmesi ve bu kaynakların ortadan kaldırılması, insanlarda hastalık vakalarının önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu araştırmada çalışılan tehlikeler ve diğer tehlikeler bakımından, kasaplık hayvanların kesim işleminden etlerin satışa sunulmasına kadar olan bütün aşamalarda genel hijyenik kurallara uyulmasının gerekliliği, gıda güvenliği yönetim sistemlerinin oluşturularak etkinliklerinin denetlenmesi son derece önemlidir.

Kaynaklar

- Atabay HI, Aydın F, Helps C, Şahin M. Identification of *Arcobacter* isolates using 16S rDNA restriction endonuclease analysis of PCR products (ARDRA), Vet Hek Mikrobiol Derg 2001; 1(1): 70-77.
- Houf K, de Zutter L, Hoof JV, Vandamme P. Occurrence and distribution of *Arcobacter* species in poultry processing, J Food Protect 2002; 65(8): 1233-1239.
- Houf K, de Zutter L, Hoof JV, Vandamme P. Assessment of the genetic diversity among *Arcobacter* isolated from poultry products by using two PCR- Based typing methods, Appl Environ Microbiol 2002; 68(5): 2172-2178.
- Rivas L, Fegan N, Vanderline P Isolation and characterisation of *Arcobacter butzleri* from meat, Int J Food Microbiol 2004; 91: 31-44.
- Vandenberg O, Dediste A, Houf K, Ibeqwem S, Souayah H, Cadranel S, Douat N, Zissis G, Butzler JP, and Vandamme P. *Arcobacter* species in human. Emerg Infect Dis 2004; 10(10), 1863-1867.
- Van Driessche E, Houf K, Vangroenweghe F, Nollet N, De Zutter L, Hoof JV. Prevalence, enumeration and strain variation of *Arcobacter* species in the faeces of healthy cattle in Belgium, Vet Microbiol 2005; 105:149-154.
- Wesley IV, Schroeder-Tucker L, Baetz AL, Dewhirst FE and Paster BJ. *Arcobacter*-specific and *Arcobacter butzleri*-specific 16S rRNA-based DNA probes, J Clin Microbiol 1995; 33(7): 1691-1698.
- Antolin A, Gonzalez I, Garcia T, Hernandez PE, Martin R. *Arcobacter* spp. enumeration in poultry meat using a combined PCR-ELISA assay, Meat Sci 2001; 59: 169-174.
- Houf K, Tutenel A, de Zutter L, Hoof JV, Vandamme P. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*, FEMS Microbiol Lett 2000; 193: 89-94.
- Houf K, Devriese LA, de Zutter L, Hoof JV, Vandamme P. Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products, Int J Food Microbiol 2001; 71: 189-196.
- Houf K, Devriese LA, de Zutter L, Hoof JV, Vandamme P. Susceptibility of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii* to antimicrobial agents used in selective media, J Clin Microbiol 2001; 39 (4): 1654-1656.
- Kabeya H, Maruyama S, Morita Y, Kubo M, Yamamoto K, Arai S, Izumi T, Kobayashi Y, Abe M, Katsube Y, Mikami T. Distribution of *Arcobacter* species among livestock in Japan, Vet Microbiol 2003; 93: 153-158.
- Kabeya H, Kobayashi Y, Maruyama S, Mikami T (2003b) One-step polymerase chain reaction-based typing of *Arcobacter* species, Int J Food Microbiol 2003; 81: 163-168.
- Gude A, Hillman TJ, Helps CR, Allen VM, Corry JEL. Ecology of *Arcobacter* species in chicken rearing and processing, Lett Appl Microbiol 2005; 41: 82-87.
- Atabay HI, Corry JEL. The prevalence of *campylobacters* and *arcobacters* in broiler chickens, J Appl Microbiol 1997; 83(5): 619-626.
- Atabay HI, Bang DD, Aydın F, Erdogan HM, Madsen M. Discrimination of *Arcobacter butzleri* isolates by

- polymerase chain reaction mediated DNA fingerprinting, *Lett Appl Microbiol* 2002; 35: 141-145.
17. Gonzalez I, Antolin GA, Hernandez PE, Martin R. Development of a combined PCR-culture technique for the rapid detection of *Arcobacter* spp. in chicken meat, *Lett Appl Microbiol* 2000; 30 (3): 207-212.
 18. Moreno Y, Alonso JL, Botella S, Ferrus MA, Hernandez J. Survival and injury of *Arcobacter* after artificial inoculation into drinking water, *Research in Microbiol* 2004; 155: 726-730.
 19. Ridsdale JA, Atabay HI, Corry JEL. Prevalence of *Campylobacters* and *Arcobacters* in ducks at the abattoir, *J Appl Microbiol* 1998; 85: 567-573.
 20. On SLW. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns, *J Appl Microbiol* 2001; 90: 1-15.
 21. Long C, Phillips CA. The effect of sodium citrate, sodium lactate and nisin on the survival of *Arcobacter butzleri* NCTC 12481 on chicken, *Food Microbiol* 2003; 20: 495-502.
 22. Snelling WL, Matsuda M, Moore JE, Dooley JSG. Under the microscope: *Arcobacter*, *Lett Appl Microbiol* 2006; 42: 7-14.
 23. Nachamkin I *Campylobacter* and *Arcobacter*, In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MC, Tenover FE, Tenover RH (Editors), *Manual of Clinical Microbiology*, Washington: ASM Press, 2000: 716-722.
 24. Phillips CA. *Arcobacter* as emerging human foodborne pathogens, *Food Control* 2001; 12:1-6.
 25. Phillips CA. *Arcobacter* spp. in food: isolation, identification and control, *Trends in Food Sci & Technol* 2001; 12: 263-275.
 26. Diker S *Gram negatif mikroaerofilik hareketli bakteriler*. In: Arda M, Minbay A, Leloğlu M, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, Izzur M, Diker KS, Özel Mikrobiyoloji, Ankara: Medisan Yayınları, 1997; 137-139.
 27. Lehner A, Tasara T, Stephan R. Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen, *Int J Food Microbiol* 2005; 102(2) : 127-135.
 28. Ho TKH, Lipman LJA, Gaastra W. *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent, *Vet Microbiol* 2006; 115:1-13.
 29. Moreno Y, Botella S, Alonso JL, Ferrus MA, Hernandez M, Hernandez J. Specific Detection of *Arcobacter* and *Campylobacter* strains in water and sewage by PCR and fluorescent in situ hybridization, *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(2): 1181-1186.
 30. On SLW, Atabay HI, Amisu KO, Coker AO, Harrington CS. Genotyping and genetic diversity of *Arcobacter butzleri* by amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis, *Lett Appl Microbiol* 2004; 39: 347-352.
 31. Öngör H, Cetinkaya B, Acik MN, Atabay HI. Investigation of *Arcobacters* in meat and faecal samples of clinically healthy cattle in Turkey, *Lett Appl Microbiol* 2004; 38: 339-344.
 32. Ho TKH, Lipman LJA, van der Graaf-van Bloois L, van Bergen M, Gaastra W. Potential routes of acquisition of *Arcobacter* species by piglets. *Vet Microbiol* 2006; 114: 123-133.
 33. Son I, Englen MD, Berrang ME, Cray PJF, Harrison MA. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing, *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 16-22.
 34. Atabay HI, Corry JEL. On SLW. Diversity and prevalence of *Arcobacter* spp. in broiler chickens, *J Appl Microbiol* 1998; 84: 1007-1016.
 35. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS. *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter* In "Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology" 2002; 476-481.
 36. Vandenberg O, Houf K, Douat N, Vlaes L, Retore P, Butzler JP, and Dediste A. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-jejunal *i.coli campylobacters* and *arcobacters* from Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 908-913.
 37. Atabay HI, Aydın F, Houf K, Şahin M, Vandamme P. The prevalence of *Arcobacter* spp. on chicken carcasses sold in retail markets in Turkey, and identification of the isolates using SDS-PAGE, *Int J Food Microbiol* 2003; 81: 21-28.
 38. On SLW, Jensen TK, Hansen VB, Jorsal SE, Vandamme P. Prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. isolated from the internal organs of spontaneous porcine abortions in Denmark, *Vet Microbiol* 2002; 85:159-167.
 39. Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik, Eskişehir: Kaan Kitabevi, 2001; 343-360.
 40. Kabeya H, Maruyama S, Morita Y, Ohsuga T, Ozawa S, Kobayashi Y, Abe M, Katsube Y, Mikami T. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan, *Int J Food Microbiol* 2004; 90: 303-308.
 41. Wesley IV. *Helicobacter* and *Arcobacter*: Potential human foodborne pathogens, *Trends in Food Sci & Technol* 1997; 8: 293-298.
 42. Wesley IV, Baetz AL. *Natural and experimental infections of Arcobacter in poultry*, *Poult Sci* 1999; 78: 536-545.
 43. Villarruel-Lopez A, Marquez-Gonzales M, Garay-Martinez LE, Zepeda H, Castillo A, Mota de la Garza L, Murano EA, and Torres-Vitela R (2003) *Isolation of Arcobacter* spp. from retail meats and cytotoxic effects of isolates against Vero cells, *J Food Protect* 1999; 66: 1374-1378.
 44. Wesley IV, Wells SJ, Harmon KM, Green A, Schroeder-Tucker L, Glover M and Siddique I. Fecal shedding of *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. in dairy cattle, *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 1994-2000.
 45. Scullion R, Harrington CS, Madden RH. Prevalence of *Arcobacter* spp. in raw milk and retail raw meats in Northern Ireland, *J Food Protect* 2006; 69(8):1986-1990.
 46. Aydın F, Gumussoy KS, Atabay HI, İça T, Abay S. Prevalence and distribution of *Arcobacter* species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. *J Appl Microbiol* 2007; 103(1): 27-35.