

Etlik Piliç Kümeslerin Su Hatlarında *Campylobacter coli* Varlığı ^[1]

Yavuz ÇOKAL *  Vildan CANER ** Cengiz ÇETİN *** Ayşin ŞEN ***

[1] Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 104T242 numaralı proje kapsamındadır

* Balıkesir Üniversitesi, Bandırma Meslek Yüksekokulu, TR-10200 Balıkesir - TÜRKİYE

** Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, TR-20020 Denizli - TÜRKİYE

*** Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-16059 Bursa - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4609

Özet

Bu çalışmada, ticari etlik piliç kümeslerin su hatlarında *Campylobacter coli* varlığının belirlenmesi amaçlandı. Birbirinden yaklaşık 25 km. uzaklıkta bulunan, artezyen ve köy şebeke suyu olmak üzere farklı içme suyu kaynağına sahip iki kümeden, üç ardışık sürü döneminde örnekler toplandı. Her iki kümede de içme suyu, nipel svap ve taze dışkı örneklerinden *C. coli* izolasyonu yapıldı. Bu sonuçlar, *C. coli*'nin etlik piliç kümeslerinin su hatlarında var olduğunu ve içme suyunun sürülerin *C. coli* ile kolonizasyonunda bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: *Campylobacter coli*, Etlik piliç, Su

Presence of *Campylobacter coli* in Water Line of Broiler Houses

Summary

This study aimed to determine the presence of *Campylobacter coli* in water lines of commercial broiler houses. The samples were taken in the period of three sequential flocks in two houses. There was a distance of approximately 25 km between the houses and drinking water was supplied by groundwater in one house while the municipal water system with polyvinyl chloride plastic pipe was the source of drinking water in the other. *C. coli* was isolated and identified in drinking water and nipple swab samples, and fresh fecal dropping samples in both houses. The results of this study suggest that *C. coli* could be found in water-line of commercial broiler houses and drinking water might be a source for flock's colonization by *C. coli*.

Keywords: *Campylobacter coli*, Broiler, Water

GİRİŞ

Termofilik *Campylobacter* türleri insanlarda gastro-intestinal infeksiyonlara neden olan önemli gıda ve su kaynaklı patojenlerdir. İnfeksiyonlardan çoğunlukla *C. jejuni* ve *C. coli* sorumludur. Her iki tür patojen de evcil ve yabani hayvanların normal bağırsak florasında bulunmaktadır. Özellikle infekte etlik piliç sürüler önemli rezervuarlardır ve kontamine kanatlı etleri insanlardaki infeksiyonun en önemli kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, insanlarda *Campylobacter* infeksiyonundan korunmada, kanatlı endüstrisindeki en etkin stratejilerden biri de sürü bazında kolonizasyonun önlenmesidir ¹. Adkin ve ark.², etlik piliç sürülerin *Campylobacter* ile infekte olmasında kümes su kaynaklarının kontaminasyonunu da içeren

37 farklı faktörün etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yeraltı su kaynaklarından içme suyuna kadar olan su hatlarının *Campylobacter* ile kontamine olması, insanlarda su kaynaklı infeksiyonlar oluşturması yanı sıra kanatlı sürüler ve diğer hayvanlar için de infeksiyon kaynağı olması açısından önemlidir. Bu çalışmada, ticari etlik piliç kümeslerin su hatlarında *C. coli* varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Ticari etlik piliç kümeslerinin su hatlarında *C. coli*'nin varlığının belirlenmesi amacı ile Zimmer ve ark.'nın



İletişim (Correspondence)



+90 266 7149302-03/116



yavuzcokal@yahoo.com

tanımladığı protokol küçük modifikasyonlarla uygulandı ³. Çalışma, birbirinden yaklaşık 25 km uzaklıkta bulunan iki etlik piliç kümesinde, üç ardışık sürü döneminde yürütüldü. Kümeslerin içme suyu kaynakları, kümes 1 için artezyen suyu ve kümes 2 için köy şebeke suyu idi. Her iki kümes de içme suyu, su kaynağından PVC borularla kümes taşınmakta, fiberglas depoda biriktirilmekte ve nipel suluklarla kümes dağıtılmaktadır. Her iki kümesin de su hattı, her dönem arasında yapılan temizlik ve dezenfeksiyon esnasında, sodyum hipoklorit solüsyonu ile dezenfekte edildi. İçme suyu örnekleri, kümeslere su girişini sağlayan ana borudan (500 ml ve 1 L) ve birinci sürünün nipel suluklarından (500 ml) alındı. Kümes girişine yakın ana su borusunun iç kısmından her biri 10x10 cm² lik bir alanı kapsayacak şekilde svap örnekleri ile ikinci ve üçüncü sürülerde nipel sulukların paslanmaz çelik pin başlıklarından svap örnekleri alındı. Ayrıca, ardışık üç sürüden de olmak üzere, sürünün yerleşmesinden itibaren kesime kadar her hafta rast gele seçilen yaklaşık 20 adet taze dışkı örnekleri alındı. Tüm örnekler, soğuk ortamda, en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı. Steril cam şişelere alınan su örnekleri, 0.22 µm por çaplı filtreler (GSWG047S1, Millipore) kullanılarak, Membran Filtrasyon Cihazı (Sartorius AG) ile filtre edildi. Su örneklerinin bir serisinden uzaklaştırılan her bir filtre, 50 ml Hunt Enrichment Broth (HEB) ⁴ içeren steril cam şişelere aktarıldı ve 42°C'de 48 saat mikroaerobik koşullarda (BR60, Oxoid) inkübasyona bırakıldı (ön zenginleştirme). Inkübasyon sonrası örneklerin Modified Charcoal Cefaperazone Deoxycholate Agar (mCCDA) (CM739, SR155, Oxoid) besiyerine pasajları yapıldı ve 42°C'de 48 saat mikroaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı. Diğer seriyi ait filtreler direkt olarak mCCDA besiyerine yerleştirildi ve aynı koşullarda inkübe edildi. Svap örnekleri, 10 ml HEB içeren tüp içine aktarıldı ve su örneklerinde belirtildiği şekilde ön zenginleştirme ve sonrasında mCCDA besiyerine pasajları yapıldı. Taze dışkı örnekleri direkt mCCDA besiyerine ekimleri yapılarak 42°C'de 48 saat mikroaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı. Hem direkt kültür hem de ön zenginleştirmeli kültür yöntemi ile inkübasyon sonrasında katı besiyerlerinde gözlemlenen *Campylobacter* şüpheli

kolonilerin saf kültürleri hazırlandı ve hippurat hidrolizi, TSI'da H₂S üretimi, oksidaz, katalaz, nitrat indirgenme testi ile birlikte nalidiksik asit ve sefolitin duyarlılık test sonuçlarına dayanılarak tür düzeyinde identifikasyonları yapıldı ⁵.

BULGULAR

Kümes 1 ve Kümes 2'den alınan içme suyu, nipel svap ve taze dışkı örneklerinden *C. coli* izolasyonu yapıldı (Tablo 1). Taze dışkı örneklerinde, sırasıyla birinci ve ikinci sürülerde 4. ve 1. haftalardan itibaren, üçüncü sürülerde ise 2. ve 3. haftalardan itibaren *C. coli* izole edildi. Her iki kümes de, sürülerin kesim yaşına yaklaştıkça *C. coli* izolasyon oranlarında artış görüldü.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Gelişmiş ülkelerde, insanlarda gastroenterit vakalarından en sık izole edilen bakteriler *Campylobacter* türleridir ve olguların büyük bir çoğunluğundan *C. jejuni* (%90) ve *C. coli* (%5-10) sorumlu tutulmaktadır ⁶. Bu nedenle *Campylobacter* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar *C. jejuni* üzerine odaklanmıştır. Ancak, *C. coli* infeksiyonlarının daha uzun süre hastanede yatışa neden olması ve infeksiyon sonrası irritabl bağırsak sendromu ile yangısal bağırsak hastalığının geliştiği arasındaki ilişkinin belirlenmesi, *C. coli*'nin de ekonomik açıdan önemli bir halk sağlığı problemi olduğunu göstermektedir ⁶⁻⁸. Aynı zamanda, *C. coli*'nin antibiyotiklere karşı güçlü direnç profilini ve birincil immün yetmezlik hastalığı olanlarda yüksek taşıyıcılığını ortaya koyan bulgular, bu bakterinin insanlar için önemli bir patojen olduğunu vurgulamaktadır ^{9,10}. Bu nedenlerle, insanlarda *C. coli* infeksiyon kaynaklarının ve araçlarının belirlenmesi, söz konusu infeksiyondan korunmada önemli veriler sağlayacaktır.

Moleküler tabanlı çalışmalar, insanlarda *C. coli* infeksiyonunun en önemli kaynağının kanatlı hayvanlar olduğunu

Tablo 1. Etlik piliç kümeslerinden alınan örneklerde *C. coli* izolasyonu sonuçları

Table 1. Results of *C. coli* isolation from samples in broiler houses

| Örnekler | Kümes 1 | | | Kümes 2 | | |
|------------------------------------|--|----------------|----------|--|----------------|---------|
| | <i>C. coli</i> izolasyonu / Örnek Sayısı | | | <i>C. coli</i> izolasyonu / Örnek Sayısı | | |
| Ana su borusu - 500 ml - 1 L | | - / 4 - / 4 | | | 3 / 6 3 / 6 | |
| Ana su borusu svap | | - / 8 | | | - / 4 | |
| | 1. Sürü | 2. Sürü | 3. Sürü | 1. Sürü | 2. Sürü | 3. Sürü |
| Nipel suluk su | 2 / 20 | X | X | 4 / 15 | X | X |
| Nipel svap | X | 1 / 12 | 2 / 24 | X | 2 / 12 | 2 / 24 |
| Taze dışkı | 22 / 120 | 27 / 120 | 28 / 113 | 12 / 93 | 11 / 100 | 19 / 93 |

X: Alınmadı

göstermiştir ^{11,12}. *C. coli*, kanatlı hayvanların yanı sıra farklı çiftlik hayvanlarında da enfeksiyona neden olmaktadır ¹³.

Ülkemizde, kanatlı işletmelerinde kullanılan suların belirli niteliklere sahip olması yasal düzenlemelerle belirlenmiştir ¹⁴. Kümeslerde çoğunlukla artezyen suyu ya da bulunduğu yerleşim yerinin şebeke suyu kullanılmaktadır. Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda *C. coli*'nin kümes içme sularında varlığı belirlenmiştir. Pérez-Boto ve ark.¹⁵, ana damızlık sürülerde yaptıkları çalışmada, yaklaşık 15 m derinlikteki kuyulardan depolara taşınıp klorlama sonrası kümeslerde kullanılan içme suyunda *C. coli* varlığını ortaya koymuşlar ve aynı genotipi kloakal svap örneklerinde de tespit etmişlerdir. Sasaki ve ark.¹⁶, dezenfekte edilmiş ve edilmemiş su kaynaklarını kullanan etlik piliç kümeslerden aldıkları içme suyu örneklerinde *Campylobacter* spp. varlığını ve dezenfekte edilmiş su kullanımının kolonizasyon riskini azaltabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, biri artezyen diğeri de köy şebeke suyu kullanan ve yetiştirme dönemleri arasında su hatları dezenfekte edilen iki kümesin ana su borusundan ve nipel suluklarından su örnekleri alındı. Ana su borusundan alınan örneklerde, izolasyon başarısını artırmak amacıyla ¹⁷ 500 ml ve 1 L olmak üzere iki farklı hacimde su örnekleri paralel çalışıldı. Kümes 2'nin ana su borusu örneklerinden *C. coli* izole edilirken Kümes 1'in örneklerinden edilmedi. Nipel suluk örneklerinden ise her iki kümeste izolasyon gerçekleşti.

Campylobacter türlerinin hassas yapıları nedeniyle su örnekleri gibi çevre örneklerinde hem düşük konsantrasyonlarda hem de canlı ancak kültürü yapılamayan (VBNC) formda bulunabildikleri rapor edilmiştir ^{15,18}. Bu nedenle su ve sulu yüzey örneklerinden yapılan izolasyon çalışmalarında her zaman başarı sağlanamayabilir. Ülkemizde kümeslere su dağıtımı çoğunlukla PVC borular ve nipel suluklar yardımı ile yapılmaktadır. Su, uzun bir süre borularda kalabilmektedir ve bu da hem borularda hem de suluk başlıklarında biyofilm oluşumuna neden olabilmektedir ³. Bu nedenle, çalışmada, kümeslere içme suyunu getiren ve PVC olan ana su borusunun iç yüzeyinden ve nipel suluk başlık yüzeylerinden svap örnekleri alındı. Her iki kümeste de ana su borusu iç yüzey örneklerinden ve bazı nipel suluk başlık yüzey örneklerinden *C. coli* izolasyonu yapılamadı. Bu durum, bakterinin tek başına veya diğer mikroorganizmalarla birlikte bu tür yüzeylere yapışarak biyofilm oluşturabildiğini ve bu biyofilmler içinde VBNC formda bulunabildiklerini düşündürmüştür. Bununla birlikte, alınan taze dışkı örneklerinden yapılan izolasyonlar ile her iki kümesteki ardışık üç sürünün *C. coli* taşıyıcısı olduğu belirlendi. Kümeslerden alınan örneklerden *C. coli* yanı sıra *C. jejuni* de izole edildi ¹⁹. Her ne kadar kümes su hatlarından elde edilen izolatlar ile taze dışkı izolatları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesine gereksinim olsa da, bu çalışmanın bulguları kanatlı kümeslerinde kullanılan içme sularının, sürülerin *C. coli* ile enfeksiyonunda önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, halk sağlığı açısından, etlik piliç sürülerde söz ko-

nusu enfeksiyonun kontrolünde, içme suyunun dezenfeksiyonuna gereken özenin gösterilmesinin yararlı olacağı açıktır.

KAYNAKLAR

- Humphrey T, O'Brien S, Madsen M:** Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. *Int J Food Microbiol*, 117, 237-257, 2007.
- Adkin A, Hartnett E, Jordan L, Newell D, Davison H:** Use of a systematic review to assist the development of *Campylobacter* control strategies in broilers. *J Appl Microbiol*, 100, 306-315, 2006.
- Zimmer M, Barnhart H, Idris U, Lee MD:** Detection of *Campylobacter jejuni* strains in the water lines of a commercial broiler house and their relationship to the strains that colonized the chickens. *Avian Dis*, 47, 101-107, 2003.
- Hunt JM:** *Campylobacter*. In, FDA Bacteriological Analytical Manual. 7th ed., pp. 77-94, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1992.
- On SLW, Holmes B:** Assessment of enzyme detection tests useful in identification of campylobacteria. *J Clin Microbiol*, 30, 746-749, 1992.
- Tam CC, O'Brien SJ, Adak GK, Meakins SM, Frost JA:** *Campylobacter coli* - An important foodborne pathogen. *J Infect*, 47, 28-32, 2003.
- Marshall JK, Thabane M, Garg AX, Clark WF, Salvadori M, Collins SM:** Incidence and epidemiology of irritable bowel syndrome after a large waterborne outbreak of bacterial dysentery. *Gastroenterology*, 131, 445-450, 2006
- Helms M, Simonsen J, Mølbak K:** Foodborne bacterial infection and hospitalization: A registry-based study. *Clin Infect Dis*, 42, 498-506, 2006.
- Thakur S, White DG, McDermott PF, Zhao S, Kroft B, Gebreyes W, Abbott J, Cullen P, English L, Carter P, Harbottle H:** Genotyping of *Campylobacter coli* isolated from humans and retail meats using multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis. *J Appl Microbiol*, 106, 1722-1733, 2009.
- Dionisi AM, Milito C, Martini H, Pesce AM, Mitrevski M, Granata G, Lucarelli C, Parisi A, Luzzi I, Quinti I:** High prevalence of intestinal carriage for *Campylobacter coli* in patients with primary antibody deficiencies: A silent infection that could shift to a life-threatening condition. *J Clin Gastroenterol*, 45, 474-475, 2011.
- Siemer BL, Nielsen EM, On SLW:** Identification and molecular epidemiology of *Campylobacter coli* isolates from human gastroenteritis, food, and animal sources by amplified fragment length polymorphism analysis and Penner serotyping. *Appl Environ Microbiol*, 71, 1953-1958, 2005.
- Sheppard SK, Dallas JF, Wilson DJ, Strachan NJC, McCarthy ND, Jolley KA, Colles FM, Rotariu O, Ogden ID, Forbes KJ, Maiden MCJ:** Evolution of an agriculture-associated disease causing *Campylobacter coli* clade: Evidence from national surveillance data in Scotland. *PLoS ONE*, 5 (12), e15708, 1-9, 2010.
- Büyük F, Çelebi Ö, Şahin M, Ünver A, Tazegül E:** İki Farklı Koyun ve Keçi Sürüsünde *Brucella* ve *Campylobacter* Ortak Enfeksiyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (Suppl A), S177-S180, 2011.
- Resmi Gazete:** Kuluçkahane ve damızlık kanatlı işletmeleri yönetmeliğinde değişiklik yapılmasına dair yönetmelik. 22 Mayıs 2009 tarih ve 27235 sayılı resmi gazete. <http://www.resmigazete.gov.tr/main.aspx?home=http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/05/20090522.htm&main=http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/05/20090522.htm> Erişim Tarihi: 04.04.2011.
- Pérez-Boto D, García-Peña FJ, Abad-Moreno JC, Hurtado-Pizarro MD, Pérez-Cobo I, Echeita MA:** Drinking water as the source of *Campylobacter coli* infection in grandparent heavy breeders. *Avian Pathol*, 39, 483-487, 2010.

16. Sasaki Y, Tsujiyama Y, Tanaka H, Yoshida S, Goshima T, Oshima K, Katayama S, Yamada Y: Risk factors for *Campylobacter* colonization in broiler flocks in Japan. *Zoonoses Public Health*, 58, 350-356, 2011.

17. Abulreesh HH, Paget TA, Goulter R: *Campylobacter* in waterfowl and aquatic environments: incidence and methods of detection. *Environ Sci Technol*, 40, 7122-7131, 2006.

18. Josefsen MH, Löfström C, Hansen TB, Christensen LS, Olsen

JE, Hoorfar J: Rapid quantification of viable *Campylobacter* bacteria on chicken carcasses, using real-time PCR and propidium monoazide treatment, as a tool for quantitative risk assessment. *Appl Environ Microbiol*, 76 (15): 5097-5104, 2010.

19. Cokal Y, Caner V, Sen A, Cetin C, Telli M: The presence of *Campylobacter jejuni* in broiler houses: Results of a longitudinal study. *Afr J Microbiol Res*, 5, 389-393, 2011.