

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARS BÖLGESİNDEKİ SU KAYNAKLARINDAN *ARCOBACTER SPP.***  
**İZOLASYONU VE MULTİPLEKS PCR İLE İDENTİFİKASYONU**

**Araş. Gör. Elif TAZEGÜL**  
**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Ahmet ÜNVER**

**2010-KARS**

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARS BÖLGESİNDEKİ SU KAYNAKLARINDAN *ARCOBACTER* SPP.  
İZOLASYONU VE MULTİPLEKS PCR İLE İDENTİFİKASYONU**

**Araş. Gör. Elif TAZEGÜL**  
**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Ahmet ÜNVER**

**Bu çalışma KAÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No. 2009-VF-17**

**2010-KARS**

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde **Elif TAZEGÜL** tarafından hazırlanmış olan “**Kars Bölgesindeki Su Kaynaklarından *Arcobacter spp.* İzolasyonu ve Multipleks PCR ile İdentifikasyonu**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/02/2010

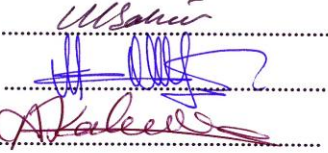
Adı Soyadı

  
İmza

Başkan: Prof. Dr. Mitat ŞAHİN

Üye : Doç. Dr. Mehmet ELMALI

Üye : Yrd. Doç. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 05/02/2010 gün ve 24/209 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ  
Enstitü Müdürü



## ÖNSÖZ

Dünyanın birçok bölgesinde içme suyu rezervuarları, yer altı suları, işlenmemiş lağım suları, nehir ve yüzey suları, deniz suyu ve koylar dahil olmak üzere çeşitli su tiplerinde *Arcobacter* türlerinin varlığı belirlenmiştir. Arkobakterlerin epidemiyoloji ve ekolojisini anlamak için bu türlerin çevresel örneklerdeki yaygınlığını belirten çalışmalar zamanla önem kazanmıştır. Kanatlı hayvanlar özellikle kazlar, suyla yakın temasta oldukları için arkobakterlerin bulaşımı ve yayılımında rol oynarlar. Arkobakterlerin taşınması, insan ve hayvanlara bulaşması, bu canlılarda kolonize olması ve hastalık oluşturması zincirin önemli bir halkasını oluşturur. Arkobakterlerin insan ve hayvanlara bulaşmasında su önemli bir rol oynamakta ve *Arcobacter* spp. ile ilişkili hastalıkların ortaya çıkışında özellikle içme suları önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Kontamine gıda ve su kaynaklarının tüketimi insan sağlığını olumsuz etkileyen önemli bir unsurdur. Klinik olarak sağlıklı oldukları halde, *Arcobacter* türleri yönünden pozitif olan hayvanlar, o bölgede yaşayan insanlar ve yetiştirilen diğer hayvan sürüleri için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Bu faktörlerin ortaya çıkış kaynaklarının, dış ortama yayılım yollarının araştırılması dikkat edilmesi gereken bir husustur. Su kaynaklarının kontaminasyonuna neden olan faktörlerin belirlenmesi, bunların yayılımının engellenmesi veya direk olarak bu etkenlerin ortadan kaldırılması için gerekli olan yöntem ve tekniklerin oluşturulması ve uygulanması, arkobakterlerin sulardaki ekoloji ve epidemiyolojilerinin aydınlatılması, izole edilen türlerin genetik karakterizasyonlarının yapılması hem insan hem de hayvan sağlığı açısından önemlidir. Bu açıdan özellikle içme ve kullanma suları ile hayvanların sürekli yakın temas halinde oldukları ve *Arcobacter* türlerinin bulaşımı ve yayılımında ciddi bir öneme sahip olması muhtemel gölet, dere ve çay sularının analizi, ülkemizde ve Kars bölgesinde konuyla ilgili yapılan ilk çalışma olacağı için ayrı bir öneme sahiptir.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince tecrübe ve bilgisiyle bana yön veren danışman hocam Doç. Dr. Ahmet ÜNVER'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mitat ŞAHİN'e, öğretim üyesi Prof. Dr. Salih OTLU'ya, Yrd. Doç. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU'na, çalışmalarım boyunca bana her zaman destek olan Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ'ye, Araş. Gör. Fatih BÜYÜK ve Araş. Gör. Aliye GÜLMEZ'e, Öğrt. Gör. Handan

ÖZCAN, Veteriner Hekim Pervin SÜRMEĖĖ, Biyolog Bahadır GÜRDEĖĖİN ve Biyolog Harun ÖZTÜRĖĖ'e ve bugünlere gelmemde en büyük emeği olan aileme teŖekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	III
TABLolar VE ŞEMALAR DİZİNİ	IV
RESİM DİZİNİ	V
1. GİRİŞ	1
1. 1. Arkobakterler ile İlgili Genel Bilgiler	1
1. 2. <i>Arcobacter</i> Türlerinin Su Kaynakları Açısından Epidemiyolojisi	18
1. 3. Çalışmanın Amacı	21
2. MATERYAL VE METOT	23
2.1. MATERYAL	23
2.1.1. Örnekler	23
2.1.2. Alet ve Ekipman	24
2.1.3. Standart Suş	24
2.2. METOT	24
2.2.1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	24
2.2.2. <i>Arcobacter</i> İzolasyonu İçin Selektif Ön Zenginleştirme	24
2.2.3. Membran Filtrasyon Tekniği Kullanılarak Katı Besiyerine İnokülasyon	25
2.2.4. İzolatların Saflaştırılması ve Muhafazası	27
2.2.5. DNA İzolasyonu ve İzolatların Tür Düzeyinde İdentifikasyonu için multipleks PCR Tekniği	27
3. BULGULAR	28
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	31
5. ÖZET	38
6. SUMMARY	39
7. KAYNAKLAR	40
8. ÖZGEÇMİŞ	46

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>ASB</b>	: <i>Arcobacter</i> Selective Enrichment Broth
<b>ASM</b>	: <i>Arcobacter</i> Selektif Katı Besiyeri
<b>BHI</b>	: Brain Heart Infusion
<b>CHO</b>	: Chinese Hamster Ovarium
<b>CAT Supplement</b>	: Caphoperazone-Amphotericin-Teicoplanin Saplement
<b>Caco-2</b>	: İnsan epitel kolorektal adenokarsinom
<b>CVA</b>	: <i>Campylobacter</i> Vancomycin Agar
<b>°C</b>	: Celsius
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nukleik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilen Diamin Tetra Asetat
<b>EMJH-P80</b>	: Elling-Hausen Mc Cullaugh Johnson-Harris-Polysorbate 80
<b>FTS</b>	: Fizyolojik Tuzlu Su
<b>HeLa</b>	: Henrietta Lacks orijinli servikal kanser hücre kültürü
<b>HEp-2</b>	: Human Embrionic Placenta
<b>JMEB</b>	: Johnson-Murano Enrichment Broth
<b>kDA</b>	: Kilodalton
<b>L</b>	: Litre
<b>LMG</b>	: Belçika Gent Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı
<b>mCCDA</b>	: Modifiye Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>mol</b>	: Mol
<b>MLST</b>	: Multilocus Sequence Typing
<b>mPCR</b>	: Multipleks Polymerase Chain Reaction
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>Porcine IPI-2I</b>	: Porcine Intestinal Cell Line IPI-2I

<b>RAPD</b>	: Randomly Amplified Length Polymorphism
<b>rRNA</b>	: Ribozomal Ribonükleik Asit
<b>SDS-PAGE</b>	: Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
<b>TBE</b>	: Tris Borik Asit EDTA
<b>TMAO</b>	: Trimethylamine-N-oxide
<b>TSIA</b>	: Triple Sugar Iron Agar
<b>TTC</b>	: 2, 3, 5- Triphenyltetrazolium Chloride
<b>U</b>	: Ünite



**TABLolar VE ŞEMALAR DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No:</u></b>
<b>Tablo 1.</b> Toplanan su örneklerinin sayıları ve lokasyonları ile örnekleme zamanları	<b>23</b>
<b>Tablo 2.</b> Kars ili ve çevresinde incelenen <u>akarsu</u> örneklerinde <i>Arcobacter</i> spp.'nin prevalansı	<b>29</b>
<b>Tablo 3.</b> Kars ili ve çevresinde incelenen <u>içme suyu</u> örneklerinde <i>Arcobacter</i> spp.'nin prevalansı	<b>30</b>
<b>Tablo 4.</b> <i>Arcobacter</i> pozitif <u>akarsu</u> örneklerinin örnekleme zamanı açısından değerlendirilmesi	<b>31</b>
<b>Şema 1.</b> Su Örneklerinden <i>Arcobacter</i> spp. İzolasyon Protokolü	<b>26</b>

**RESİM DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No:</u></b>
<b>Resim 1.</b> Elde edilen izolatların multipleks PCR sonucu elde edilen jel fotoğrafı	<b>31</b>

## GİRİŞ

### 1. 1. Arkobakterler ile İlgili Genel Bilgiler:

#### Tanım ve Tarihçe:

Arkobakterler ilk kez 1977 yılında Ellis ve ark. tarafından aborte koyun, sığır ve domuz fetuslarından izole edilmiştir (29,30,45,48). Ellis ve ark. yaptıkları bu çalışmada fenotipik olarak birbirinden farklı özelliklere sahip spiral şekilli mikroaerofilik iki farklı mikroorganizma grubunun varlığını bildirmişlerdir. Bunlardan birinci grup *Campylobacter fetus* olarak tanımlanırken (32,48,53,67), ikinci grup mikroorganizmalar ise daha önceden tanımlanamayan *Campylobacter* taksonuna dahil edilmiştir (32,48,53). Diğer araştırmacılar ise aborte sığır ve domuz fetuslarından (29,30), mastitisli inek sütlerinden (22,47), sığır prepusiyal kılıf yıkama sıvısından (22,67), ikinci grupta yer alan bakterilere benzerlik gösteren bakteriler izole etmişlerdir (69). Daha sonra Neill ve ark. (32), yaptıkları çalışmalarda bu mikroorganizmaların mikroaerobik ortamdaki ilk izolasyonlarından sonra (53), tamamının atmosferik oksijen varlığında (71) üreyebilme yeteneklerinden dolayı bu bakterileri gerçek kampilobakterlerden ayırmışlar ve 'aerotolerant kampilobakterler' olarak tanımlamışlardır (32,69).

Daha sonra 90 tane aerotolerant kampilobakter suşu Neill ve ark. tarafından (53) biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri göz önünde bulundurularak incelenmiş (54,69) ve bu bakteriler '*Campylobacter cryaerophila*' olarak tek bir isim altında toplanmıştır (32,54,69). Takip eden yıllarda Kiehlbauch ve ark. (45), etraflı bir DNA-DNA hibridizasyon çalışması yürüterek 78 aerotolerant *Campylobacter* suşunun fenotipik analizini gerçekleştirmişler ve iki ayrı hibridizasyon grubu belirlemişlerdir. Bu suşların bir kısmı daha önceden tanımlanan *Campylobacter cryaerophila*'ya ait olurken, diğer bir kısmının DNA homologluk düzeyinin *Campylobacter cryaerophila*'ya yaklaşık %40 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiş ve bu tür Kiehlbauch ve ark. tarafından *Campylobacter butzleri* olarak isimlendirilmiştir (45,69). Daha sonra Vandamme ve ark. (1991,1992) yaptıkları ileri immunitiplendirme ve hücresel proteinlerde SDS-PAGE, yağ asitleri analizi ve ayrıca DNA-rRNA ve DNA hibridizasyon çalışmaları ile

izolatların karşılaştırılması neticesinde aerotolerant kampilobakterler için *Arcobacter* cinsini önermişlerdir (32,66,69). Bu araştırmacılar daha önce *Campylobacter cryaerophila* olarak isimlendirilen bakteri grubunu *Arcobacter cryaerophilus* (DNA hibridizasyon grup 1A ve 1B) olarak, *Campylobacter butzleri* olarak isimlendirilen bakterileri *Arcobacter butzleri* olarak, *Campylobacter nitrofigilis*'i ise *Arcobacter nitrofigilis* olarak yeniden adlandırmış ve *Arcobacter* cinsine dahil etmişlerdir. Ardından yeni bir tür olan *Arcobacter skirrowii*'nin eklenmesiyle cins içerisinde 4 tür tanımlanmıştır (32,69). Daha sonra yapılan farklı çalışmalar sonucunda cins içerisine *Arcobacter halophilus* sp. nov. ve *Arcobacter cibarius* adlı iki yeni tür daha dahil edilmiştir (37). *Arcobacter* cinsi; *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella* ve *Sulfuro spirillum* cinslerinin de içerisinde yer aldığı Protobacteria rRNA superfamiliya VI (69) ve *Campylobacter* cinsinin de dahil olduğu *Campylobacteraceae* familyası içerisinde yer almaktadır (18,33).

### ***Arcobacter* Cinsinin Genel Özellikleri:**

Kelime anlamı olarak ‘‘kavisli çubuk’’ (arc-shaped bacterium) anlamına gelen Arkobakterler Gram negatif, S-şeklinde veya helikal şekilli, spor oluşturmeyen (18,32,33,45,69), 0.2-0.9 µm eninde ve 0.5-3.0 µm uzunluğunda (37,39,69), mikroaerofilik, tek bir polar veya iki ucuna yerleşmiş kılıfsız polar flagella ile (18,32,33,39,58) kurbağa larvası veya tirbuşon benzeri şekilde aktif hareket eden bakterilerdir (32,58,66,69).

Suşlar katalaz ve oksidaz aktivitesine sahiptir (45,66,69). Metil Red ve Voges Proskauer testleri ile üreaz aktivitesi negatiftir. İndol oluşturmazlar. Nitratı indirgerler ancak, hippurat, eskulin ve nişastayı hidroliz edemezler. Arkobakterler karbonhidratları fermente etmedikleri gibi oksidasyon reaksiyonlarını da gerçekleştiremezler. Karbon kaynağı olarak organik asitleri ve amino asitleri kullanırlar (66,69).

Arkobakterler; helikobakter ve kampilobakterlerden farklı olarak aerobik ortamlarda da üreyen mikroorganizmalardır (54). Onbeş, yirmibeş ve 30°C’lerde kolay ürerler (32,45,66), fakat 37 ve 42°C’lerde üremeleri değişkenlik gösterir (69). Optimal gelişimleri mikroaerolik ortamda (%3-10 CO<sub>2</sub>) gerçekleşmektedir (33,66,69). Mikroaerobik üreme sırasında hidrojene ihtiyaç duyulmaz (33,69). Aerobik üreme 30°C’de, anaerobik üreme ise 35-37°C’de gerçekleşir (69).

Arkobakterler, 55°C ve üzerinde kolaylıkla inaktif hale gelebilmektedirler. Optimum pH 6-7 (*A. butzleri*) ve 7-7.5 (*A. cryaerophilus*) ve sınır değerler 5-8.5'tir (39). Kanlı agarda 30°C'de 2-3 günlük inkübasyondan sonra 2-4 mm çapında, grimsi-beyaz renkte, konveks, düzgün kenarlı koloniler meydana getirirler. Ancak koloni büyüklüğü pasajlarla değişebilir ve taze agarda yaygın koloniler meydana getirebilirler (66). *Arcobacter skirrowii* ve bazı *A. butzleri* suşları alfa hemolitik aktiviteye sahiptir (58,69). Suşların birçoğu non-hemolitikdir (66).

### ***Arcobacter* Türleri ve Özellikleri:**

***Arcobacter cryaerophilus*:** DNA hibridizasyonu esas alınarak *A. cryaerophilus*, 1A ve 1B olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır (58,66). Bu tür 0.5-3.0 µm boyutlarında ve helikal şekillidir; sahip olduğu tek polar flagella ile aktif şekilde hareket eder. İlk izolasyonlarında mikroaerobik ortama ihtiyaç duymalarına rağmen aerobik ve anaerobik ortamlarda da üredikleri gözlenmiştir. Optimal üreme ısıları 30°C'dir, ancak bazı suşlarda 5-40°C'de üreme olduğu görülmüştür. Bunun yanısıra bütün suşlar 15°C'de ürer ve katı besiyerinde 48-72 saatlik inkübasyon sonunda küçük, yaygın, sarı ya da bej renkte koloniler meydana getirirler (7,53). *Arcobacter cryaerophilus* katalaz ve oksidaz aktivitesine sahipken (7,38,53), nitrat redüksiyonu yönünden negatif sonuç verir. Metil Red ve Voges Proskauer testleri negatiftir. Triple Sugar Iron (TSI) Agarda ve sistein içeren besiyerinde H<sub>2</sub>S üretmez; indol, ornitin, lizin, arjinin, üreaz, ribonukleaz ve deoksiribonukleaz oluşturmazlar (7,53). Jelatini sıvılaştırmaz; eskulin, hippurat, nişasta ve kazein hidrolizini gerçekleştirmezler. Mac Conkey agarda üremezler (7,53,69). DNA baz kompozisyonları %28-29 moldür (69).

***Arcobacter butzleri*:** *Arcobacter butzleri* Gram negatif, helikal şekilli ve spor oluşturmayan (45,58,69), 0.2-0.4 µm x 1.0-3.0 µm boyutlarında olan ve bir veya her iki uca yerleşmiş polar flagellalarıyla aktif hareket eden bir mikroorganizmadır (38,45). Kanlı agarda 3 günlük inkübasyondan sonra 2-4 mm çapında, yuvarlak, beyaz koloniler meydana getirir (45,58). Mikroaerobik ortamda 15, 25, 30, 36 ve 40°C'de üreme meydana gelirken, etken 5°C'de üreme meydana getirmez (58). 42°C'de ise üreme değişkenlik gösterir (58,69), ancak, optimum üreme ısı 25-30°C'dir (45). *Arcobacter butzleri* şekerleri fermente etmediği gibi oksidasyon redüksiyonunu da gerçekleştirmez. İlk izolasyonda mikroaerobik ortama ihtiyaç duyarken,

subkültürün oluşumundan sonra aerobik olarak gelişebilmektedir (38). Katalaz aktivitesi zayıf veya negatiftir. Bakteri %1 glisin varlığında üreme gösterirken, %1.5 ve %3.5 NaCl varlığında değişken bir üreme görülür (45,69). Bu özellikleriyle *A. butzleri* diğer *Arcobacter* türlerinden ayrılır (48). Sisteinden H<sub>2</sub>S üretimi değişkendir. Yine %1 oxgall varlığında üreme değişkenlik gösterir. Bunlarda %0.04 2, 3, 5- Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) içeren besiyerinde kırmızı pigmentli değişken bir üreme gözlenir. Mac Conkey agarda üreme meydana gelir. TSI agarda H<sub>2</sub>S üretimi meydana gelir. Sodyum selenit içeren besiyerinde üreme meydana gelmez. Kan ilaveli ve ilavesiz HIA ve *Brucella* besiyerinde iyi derecede meydana gelirken, çikolata agarın kullanımı üremeyi olumsuz yönde etkiler. DNA baz kompozisyonları %28-29 moldür (45).

***Arcobacter skirrowii*:** *Arcobacter skirrowii* 1.0-3.0 µm x 0.2-0.4 µm boyutlarında (69), helikal şekilli ve kanlı agarda 3 günlük inkübasyondan sonra 2-3 mm çapında, gri ve düzensiz şekilli koloniler meydana getiren bir mikroorganizmadır. Suşların birçoğu kanlı agarda alfa hemoliz meydana getirir (58,69). Mac Conkey agarda ve %1 oxgall varlığında da üreme meydana gelmez. Sisteinden H<sub>2</sub>S üretimi negatiftir. Birçok suş %0.04 TTC ve %1.5 NaCl varlığında üremez. Bütün suşlar 30µg'lık nalidiksik asit disklerine duyarlılık gösterirken birçok suş da sefalotine duyarlılık gösterir. *Arcobacter skirrowii*'nin alfa hemolitik olması, onu diğer *Arcobacter* türlerinden ayıran en önemli özelliğidir. DNA baz kompozisyonları %29-30 moldür (69). *Arcobacter skirrowii* sağlıklı ya da klinik olarak hasta bazı çiftlik hayvanlarından izole edilebilen üç *Arcobacter* türünden birisidir (61,69).

***Arcobacter nitrofigilis*:** İlk kez 1980 yılında tuzlu bir bataklık bitkisi olan *Spartina alterniflora*'nın köklerinden ve kökle ilişkili sedimentlerinden izole edilen *A. nitrofigilis*, önce *Campylobacter nitrofigilis* olarak adlandırılmış (49,67), daha sonra *Arcobacter* cinsine dahil edilerek *Arcobacter nitrofigilis* adını almıştır. İnsanlarda ve hayvanlarda bulunmayan tek *Arcobacter* türüdür (66). Bütün suşlar 15 ve 30°C'de ürer. Suşların bir kısmı 36°C'de zayıf bir üreme gösterir, bir kısmı da 42°C'de hiçbir üreme göstermez (48). Kılıfsız tek bir polar flagellaya sahip olup hareketini bu yapıyla sağlar. Bu tür, Arkobakterler içinde nitrogenaz aktivitesi bulunan ve hayvanlardan izole edilmeyen tek türdür. *Arcobacter nitrofigilis*, 16S rRNA sekansı incelendiğinde, bakterinin Arkobakterlerin diğer türleri ile %89 oranında benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (48,69).

***Arcobacter cibarius*:** *Arcobacter cibarius* Gram negatif, 1.0-5.0 µm x 0.5 µm boyutlarında, kıvrımlı bir *Arcobacter* türüdür. Kanlı agarda 28°C'de 72 saatlik inkübasyondan sonra 2 mm çapında, beyaz, düz kenarlı, konveks, yayılmayan koloniler meydana getirir. Suşlar *Arcobacter* selektif agarda 1-2 mm çaplı, opak, düz kenarlı koloniler meydana getirirler. Oda sıcaklığındaki (18-22°C) mikroaerobik koşullarda ve 37°C'de üreme gözlenirken, 42°C'de üreme gözlenmemiştir. Anaerobik koşullarda gerek saplementsiz % 5 kanlı agarda ve gerekse % 0.1 Trimetilamin N-oksit (TMAO) içeren kanlı agarda zayıf da olsa üreme meydana gelmiştir. Suşlar 37°C'de aerobik ortamda üreme göstermezken, bazı suşlar 25°C'de aerobik ortamda üreme göstermiştir. Suşların hiçbiri kanlı agarda hemoliz meydana getirmez. Oksidaz redüksiyonu pozitifdir. İndoksil asetat hidroliz edilir. Bazı suşlar katalaz aktivitesine sahiptir. Alkalın fosftaz, üreaz, hippurikaz aktiviteleri belirlenmemiştir. TSI agarda H<sub>2</sub>S oluşturmazlar. %1 glisin içeren besiyerinde üreme gözlenmemiştir. Mac Conkey agarda ise üreme değişkenlik gösterir (37).

***Arcobacter halophilus*:** *Arcobacter halophilus* Gram negatif, 0.4-0.5 µm x 1.5-2.5 µm boyutlarında, helikal şekilli bir *Arcobacter* türüdür ve %3.5 NaCl içeren %5 kanlı agarda 18-22°C'de mikroaerobik koşullarda 72 saatlik inkübasyon sonunda yaklaşık 1-2 mm çapında, düz kenarlı, beyaz, konveks, koloniler meydana getirir. Tek polar flagellasıyla hareket eder. Oksidaz üretimi ve indoksil asetat hidrolizi pozitifdir. Nitrata indirger, fakat katalaz, üreaz, alkalın fosfataz veya DNAaz üretmez ve hippurata hidroliz edemezler. Kanlı agarda hemoliz oluşturulmaz. TSI agarda H<sub>2</sub>S üretimi negatifdir. Mac Conkey agarda mikroaerobik ortamda üreme meydana gelmez. *Arcobacter halophilus*, *Arcobacter* cinsine ait ilk zorunlu halofilik üyedir (14).

### **Virulens Faktörleri:**

Şu ana kadar, *Arcobacter* türlerinin patojenite mekanizmaları veya virulens faktörleri hakkında az sayıda bilgi mevcuttur (46,58). *Arcobacter butzleri* ve *A. cryaerophilus*'un in vitro adhezyon, invazyon ve sititoksisiteleri üzerinde birkaç çalışma mevcut iken, *A. skirrowii* ile ilgili elde edilen bir çalışma yoktur (33).

Yapılan bir çalışmada nehir suyu örneklerinden elde edilen 18 adet *A. butzleri* izolatu, varsayılan virulens faktörleri bakımından incelenmiştir. Afrika yeşil maymunu böbrek hücreleri (Vero) ve Çin hamster ovaryumu (CHO) hücrelerinde ortaya çıkan tepkilerin analizinden sonra sitotonik, sitotoksik, sitoletal distending faktörlere dayalı toksin profilleri belirlenmiştir. Adhezivite ve invazivite testleri aynı zamanda intestin 407 hücreleri üzerinde de uygulanmıştır. Tek bir suş, kültürdeki hücreler üzerinde sitotoksik etkilere neden olmuştur. Sitotoksik olarak negatif olan suş, CHO hücrelerinde uzamaya (sitotonik- benzeri bir etki) neden olmuştur. Test edilen hücrelerde invazivlik gözlenmemiştir. Bu çalışma ile çevresel kaynaklardan izole edilen Arkobakterler içerisinde fenotipik heterojenlik olduğu ortaya konmuş ve bazı suşların da potansiyel olarak virulent olabileceği bildirilmiştir (46).

Carbone ve ark. yaptıkları bir çalışmada, elde ettikleri 17 adet *Arcobacter* suşundan 6 sınıfın hem HEp-2 hem de HeLa hücre hatları üzerinde adeziv etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir (9).

Vandenberg ve ark. da insan dışkı örneklerinden elde ettikleri 12 adet *A. butzleri* suşunun tamamının HEp-2 hücrelerine yapışma kabiliyetinde olduklarını bildirmişlerdir (26).

Ho ve ark. yaptıkları bir çalışmada 8 adet *Arcobacter* suşunu incelemişlerdir. Bu suşlardan 4'ü *A. butzleri* LMG 6620, *A. skirrowii* LMG 6621, *A. cryaerophilus* LMG 7537 ve *A. cibarius* LMG 21996 şeklinde Belçika Gent Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından (LMG); diğer 4'ü ise dişi domuzların amniyotik sıvılarından ve yenidoğan domuzlardan sağlanmıştır. Çalışmada izolatların insan Caco-2 ve porcine IPI-2I hücre hatları üzerindeki adeziv ve invaziv yetenekleri incelenmiştir. Çalışma sonunda 8 *Arcobacter* suşunun da her iki hücre hattına adhere olma (yapışma) yeteneğinde oldukları görülmüştür. Bu izolatlar içerisinde de özellikle *A. cryaerophilus*'un diğer *Arcobacter* suşlarına göre, invaziv etkisinin daha fazla olduğu aynı araştırmacılar tarafından önceki yıllarda bildirilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda farklı kaynaklardan elde edilen izolatların virulens mekanizmalarında da farklılık olduğu bildirilmiştir (34).

*Arcobacter* türlerinin in vitro aktivitelerinin hücre morfolojilerinde değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir. *Arcobacter* spp.'nin ürettiği toksinler ve bu toksinlerin doğasının ne olduğu henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (9,33,42). Yapılan çalışmalarda iki *Arcobacter* suşunun insan ve hayvana ait eritrositler üzerinde hemaglutinasyon aktivitesine sahip olduğu belirlenmiş ve eritrositlerin hücre yüzeyinde D-galaktoz içeren bir reseptörle etkileşen yaklaşık 20 kDa büyüklüğünde lektin-benzeri bir protein ile karakterize bir hemaglutininin varlığı ortaya konmuştur (33).

Yine 27 adet çevresel izolatin HEp-2 ve HeLa hücre hatları üzerindeki adheziv aktiviteleri ile ilgili yapılan bir çalışmada, 17 adet *A. butzleri* suşundan 6'sının her iki hücre hattı üzerinde güçlü adheziv aktivite gösterdiği bildirilmiştir (9,34).

### **Epidemiyoloji:**

Arkobakterler insanlardan, sağlıklı ve hasta farklı hayvan türlerinden, değişik gıdalardan ve su örneklerinden izole edilebilmektedir (43,56). Bu türler daha çok kanatlı, sığır ve domuz eti gibi hayvansal orijinli gıdalardan izole edilmekte ve çiğ ya da az pişmiş hayvansal orijinli besinler ve kontamine sular aracılığı ile insanlara bulaşmaktadır (8,16). İnsanlarda hastalık olgularından daha çok *A. butzleri* izole edildiği için (2,33) bu türün halk sağlığı açısından önemi diğer türlere göre daha yüksektir.

Kars Bölge'sinde broyler karkaslarından (2), sağlıklı kazların kloaka örneklerinden (5,64) ve sağlıklı koyunların gaita örneklerinden (62) farklı arkobakter türleri izole edilmiştir. Atabay ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada farklı üç çiftlikten sağlanan sağlıklı evcil kazların kloaklarından alınan 90 tane kloakal svap örneğinde *Arcobacter* spp.'nin prevalansı ve dağılımı araştırılmıştır. Bu çalışmada incelenen 90 adet örneğin 16'sı (%18'i) *Arcobacter* yönünden pozitif bulunmuştur. Elde edilen bu 16 *Arcobacter* izolatinın 7'si (%44'ü) *A. cryaerophilus*, 7'si (%44'ü) *A. skirrowii* ve 2'si de (%12.5'i) *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma evcil kazların kloaklarının, farklı *Arcobacter* türlerine bir barınak olduğunu göstermektedir (5). Çalışmada, incelenen 3 farklı kaz sürüsüne bağlı olarak Arkobakterlerin kazlardaki taşınma oranı ile ilgili farklı sonuçlar bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar incelenen kaz sürülerinde sırasıyla



%33, %16 ve %13 şeklinde olmuştur. Bu farklı sonuçların nedeni olarak da üreme ortamı veya koşulları, *Arcobacter* barındıran diğer hayvanlar veya su gibi kontamine kaynakların kolay girişi gibi bazı faktörler ileri sürülmüştür. Elde edilen örneklerin bulunduğu bölgedeki kazlar aynı zamanda dışarıda serbest dolaşan başka evcil hayvanların da bulunduğu küçük çaplı bir çiftlikte barındırılmış olup, etken mikroorganizmaların kazlara bulaşma kaynağı olarak diğer hayvanların dışkıları bulaşan aracılığıyla ortama yayılması veya etkenle kontamine suyun tüketilmesi gösterilmiştir. Bu yüzden bölgedeki aile üyeleri ve diğer hayvanlarla yakın temas halinde oldukları için kazlar, Arkobakterlerin insanlara ve diğer hayvanlara bulaşmasında potansiyel bir rol oynamaktadır.

Kars bölgesinde sağlıklı koyunların gaita örnekleriyle yapılan bir çalışmada 104 adet koyun gaita örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonunda 104 örneğin sadece bir tanesinden (%0,9) *Arcobacter* izolasyonu gerçekleştirilmiş olup izolatın tür düzeyinde *A. cryaerophilus* olarak tanımlanmış olduğu bildirilmiştir (62).

Aynı bölgede yapılan farklı bir çalışmada 100 adet kaz ve 10 adet hindinin dışkı örnekleri incelenmiştir. Çalışmada hindilere ait dışkı örneklerinin hiçbirinde (%0) *Arcobacter* izolasyonu gerçekleştirilemezken, 100 adet kaz dışkısı örneğinin 26'sından (%26) *Arcobacter* spp. izole edilmiştir. Paşaçayırı mevkiinden sağlanan 35 kaza ait dışkı örneğinin 12'sinden ve çalışmaya dahil edilen diğer bölgelerden sağlanan 65 adet kaza ait dışkı örneğinin 14'ünden *Arcobacter* spp. izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sonuca göre Arkobakterler için uygun rezervuarlar olarak kabul edilen kazların bu türlerin kolonizasyonu, diğer hayvanlara ve insanlara bulaşması ve çevreye yayılması yönünden önemli bir taşıyıcı grup olduğu belirtilmiştir (64).

Atabay ve ark. (2) tarafından yapılan bir çalışmada 44'ü taze ve 31'i donmuş olmak üzere toplam 75 adet tavuk karkası örneği incelenmiştir. Çalışma sonunda 44 taze tavuk karkası örneğinin 42'sinden (%95'inden) ve 31 donmuş karkas örneğinin de 7'sinden (%23'ünden) *A. butzleri* izole edilmiştir. İncelenen karkasların tamamının %20'sinden ve tavuk butlarının %10'undan *A. butzleri* izole edilmiştir. Bununla birlikte, incelenen donmuş 9 tavuk kanadı örneğinin dördünden (%44'ünden) *A. butzleri* izole edilmiştir. Buna göre donmuş tavuk tavuk kanatlarında *A. butzleri*'nin bulunma oranının daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca,

incelenen iki donmuş tavuk göğsü örneğinin hiçbirinde *A. butzleri* izole edilememiştir. Çalışmada *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii*'nin izole edilemediği bildirilmiştir. Bunun nedeni olarak da bu iki türün çalışma kapsamına alınan örneklerde bulunmadığı ileri sürülmüştür.

### ***Arcobacter* Türlerinin Neden Olduğu Hastalıklar:**

Arkobakterlerin hasta hayvanlardan, tavuk karkaslarından ve enteritli insanlardan izole edilmesi *Arcobacter* türlerinin önemli insan patojenleri olabileceklerini göstermektedir (51). Bu yüzden bu mikroorganizmaların bulaşmasında suyun önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir, özellikle de içme suyu *Arcobacter* ilişkili diyarel hastalıkların ortaya çıkışında önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır (50,51). *Arcobacter* ilişkili ilk klinik olgu 1987 yılında bildirilmiştir, bazı çalışmalarda *A. butzleri*'nin insanlar için, potansiyel bir patojen olarak dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir. Bu bakteri akut ve şiddetli diyarel hastalıklarla, tekrarlayan abdominal kramplar, kronik diyare, bakteriyemi ve neonatal sepsis ile ilişkilendirilmektedir. Zoonotik bir bakteri olarak *A. butzleri*'nin, hayvan veya hayvan atıklarıyla direkt temasta bulunan insanlarda ortaya çıkabilecek infeksiyonlar için bir risk faktörü olabileceği düşünülmelidir (21).

Taylor ve ark. (63), Bangkok'ta bir çocuk hastanesine gelen 1-3 yaşlarıdaki çocuklar üzerinde bir çalışma yapmışlar ve 14 haftalık bir çalışma periyodunda 3 günden fazla akut diyare görülen bütün çocuklarda yüksek ateş, kusma ve karın ağrısı şikayetlerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla ilgili yapılan ikinci çalışma 22 hafta sürmüş olup bu çalışmada da 5 yaşın altındaki akut diyareli çocuklar araştırmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmada ribotip ve DNA-DNA hibridizasyonu ile 17 atipik izolatın 15 tanesinin grup 2 aerotolerant kampilobakter türüne ait olduğu görülmüştür. Grup 2 aerotolerant kampilobakterler ile infekte çocukların 1-2 yaşlarında oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmada, diyare şikayeti olan 631 çocuktan elde edilen izolatların 15'inin aerotolerant kampilobakter olduğu belirtilmiştir. 93 *Campylobacter* izolatının yaklaşık %16'sı grup 2 aerotolerant kampilobakter türüne ait bulunmuştur.

Yan ve ark. (73), tarafından yapılan bir çalışmada 2 yıldır karaciğer sirozu hastası olan 60 yaşındaki bir erkeğin şikayetleri üzerine bir çalışma yapılmıştır. Hastada yüksek ateş ve özefagusda variceal kanama görülen bu hastadan dışkı örnekleri alınarak incelenmiştir. Yapılan

mikrobiyolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda alınan örnekten *A. butzleri* izole edilmiştir. Hastanın çiftlik hayvanlarıyla hiçbir şekilde temasta bulunmadığı, fakat infeksiyonun muhtemel nedeni olarak hastanın kontamine su veya gıdaları tüketmiş olabileceği belirtilmiştir. Sonuçta bu çalışmada *A. butzleri*'nin bir insan patojeni olduğunu gösteren, karaciğer sirozu hastası bir kişide neden olduğu bakteriyemi olgusu bildirilmektedir.

Vandamme ve ark. (68), 1983 yılında İtalya'nın Rovigo bölgesindeki bir anaokulu ve ilkokuldaki salgın üzerine bir çalışma yapmışlardır. Salgın bu okullardaki toplam 65 çocukta ortaya çıkmıştır. Bu çocuklardan 25'i 2-5 yaş arasında ve anaokulu öğrencisi iken, 40'ı da 6-8 yaşları arasında ve ilkokul öğrencisiydi. Eylül-Ekim ayları arasında takrarlayan abdominal kramplarla karakterize klinik sendromlardan şikayet eden 5'i anaokulu öğrencisi, 2'si ilkokul birinci ve 3'ü de ilkokul ikinci sınıf öğrencisi olmak üzere toplam 10 öğrenci bu çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalardan dışkı örnekleri alınıp incelenmiş ve bu salgının temel nedeninin *A. butzleri* serogrup 1 suşlarının olduğu belirlenmiştir.

Higgins ve ark. (31), tarafından yapılan bir çalışmada kronik sulu diyare görülen 20 yaşındaki dişi bir macaque maymunu üzerinde çalışılmıştır. Yapılan çalışmada dişi maymunun 60 üyelik bir gruptan seçildiği belirtilmiştir. Çalışma sonunda maymundan alınan dışkı örneklerinden *A. butzleri* izole edilmiştir. Anderson ve ark. (1), yaptıkları 8 aylık çalışmada sürekli diyare görülen 222 macaque maymunlarından dışkı örnekleri alarak incelemiş ve 14 ünde *A. butzleri* infeksiyonu belirlemişlerdir.

Aydın ve ark. (6), doğal olarak infekte çelikbaş alabalığından *A. cryaerophilus* izole etmişler ve etkenin çelikbaş alabalığı üzerindeki etkilerini görmek için balıklara intramuskular enjeksiyon yapmışlardır. Yapılan bu deneysel infeksiyonların balıklarda karaciğerde hasara, böbrekte kanlanma, kalpte hemoraji, bağırsaklarda şişkinliklere ve hatta ölümlere neden olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre de *A. cryaerophilus*'un çelikbaş alabalıkları için önemli bir patojen olduğu belirtilmiştir.

Wesley ve ark. (70), yaptıkları bir çalışmada tavuklardan alınan 407 kloakal svap örneğinin % 15'inden *Arcobacter* spp. izole etmişlerdir. Kloakal svap örneklerinin % 1'inde *A. butzleri* identifiye etmişlerdir.

### ***Arcobacter* Türlerinin İzolasyonları:**

*Arcobacter* suşları aerobik gelişime muktedir olmalarına karşın ilk izolasyonları için optimal gelişim ortamı mikroaerobik ortamdır (% 3-10 O<sub>2</sub>). Mikroaerofilik ihtiyaçlar, ticari olarak ulaşılabilir gaz kitleri veya bifazik üreme ortamları ile karşılanabilir. Hidrojenle zenginleştirilmiş bir ortam ilk izolasyonda yardımcı olabilir (48).

Arkobakterler, kampilobakterlerin izolasyonunda kullanılan ortamlardaki inhibitörlere karşı duyarlı olmalarından dolayı, bu ortamlar bu bakterilerin izolasyonları için uygun değildir. Ancak kampilobakterlerin izolasyonları amacıyla kullanılan ortam ve metotların modifiye edilmesiyle oluşturulmuş yeni ortam ve metotlar kullanılmaktadır (58).

Ellis ve ark. *Leptospira* izolasyonu amacıyla kullanılan 100µg/ml 5-flourourasil saplementli *Leptospira* medium EMJH-P80'i kullanarak vibrio-benzeri mikroorganizmalar izole etmişlerdir. Bu, 5-folourourasil ile desteklenmiş yarı katı besiyeri doğal olarak aborte domuz dokularından *Arcobacter* spp.'yi zenginleştirmek için kullanılmaktadır. EMJH-P80 besiyerinin kullanımı, *Leptospira* spp.'nin izolasyonu için kullanılan diğer selektif besiyerlerinin, et örneklerinden *Arcobacter* spp. izolasyonu için uygun olabileceğini göstermiştir (4,11).

Bu çalışmaların ardından *Arcobacter* türlerinin izolasyonu için 4 izolasyon protokolü tanımlanmıştır. De Boer ve ark. (1996) gıdalardan arkobakter izolasyonu için bir *Arcobacter* selektif enrichment broth (ASB) ve bir *Arcobacter* selektif yarı katı besiyeri (ASM) ni geliştirmişlerdir. Bu besiyeri, içerisine selektif substanslar olarak sefoperazon (32mg/l), piperasilin (75mg/l), trimetoprim (20mg/l) ve siklohekzimid (100mg/L) katılarak oluşturulmuştur. Domuz etinden *Arcobacter* izolasyonu için Collins ve ark. (1996), CVA (*Campylobacter* Vancomycin Agar)'da pleyti takiben zenginleştirici besiyeri olarak 5-florourasil (200mg/L) ile desteklenmiş EMJH-P80 besiyerini kullanmıştır (Brain Heart Infusion Agar

içerisinde sefalotin (20mg/L), vankomisin (10mg/L) ve amfoterisin B (5mg/L) bulundurmaktadır). Farklı broth ve katı besiyerlerinin bazı formulasyonlarının karşılaştırılmasını temel alarak, Johnson ve Murano (1999a), selektif ajanlar olarak 5-flourourasil (200mg/L) ve sefoperazon (32mg/L) ilave edilmiş yeni bir zenginleştirici broth ve izolasyon besiyerini önermişlerdir. Bu araştırmacılar, çiftlik hayvanlarından *Arcobacter* spp. izolasyonu amacıyla bu 3 metodu karşılaştırmışlar ve yaptıkları çalışma sonunda ortamda bulunan diğer bakterileri yüksek derecede inhibe eden ve Arkobakterlerin izolasyonuna izin veren prosedürlerini bulmuşlardır (1999b). Atabay ve ark. da (1998) dördüncü metot olarak, selektif saplement olarak CAT saplementi (sefoperazon (8mg/L), amfoterisin B (10mg/L) ve teikoplanin (4mg/L) ) kullanmışlar ve çiftlik hayvanlarından alınan örneklerde bu yöntemi uygulayarak 3 *Arcobacter* türünün de (*A. cryaerophilus*, *A. butzleri* ve *A. skirrowii*) izolasyonunu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (36).

Houf ve ark. (36), yaptıkları bir çalışmada yeni bir izolasyon protokolü bildirmişlerdir. Bu çalışmada amfoterisin B (10mg/), sefoperazon (16mg/L), 5-flourourasil (100mg/L), novobiosin (32mg/L) ve trimetoprim (64mg/L) nin içerisinde bulunduğu yeni bir selektif saplement geliştirmişlerdir. Bu yeni izolasyon yönteminde, selektif saplementli *Arcobacter* brothda zenginleştirme işlemiyle birlikte örnekler mikroaerobik koşullar altında, 28°C'de, 24-48 saat inkübe edilmiştir. Çalışma sonunda tavukların boynundan alınan 34 deri örneğinin tamamından (%100) ve broilerlerden alınan 71 tane benzer örneğin %90'ından *Arcobacter*ler izole edilmiştir. Bu yeni izolasyon metodu çiftlik hayvanlarından *Arcobacter* türlerinin izolasyonu için hızlı ve güvenilir bir metot olduğunu kanıtlamakta ve daha kapsamlı epidemiyolojik araştırmalara katkıda bulunabilmektedir.

Eifert ve ark. (17), yaptıkları bir çalışmada tavuklardan (3, 5 veya 7 haftalık) aldıkları kloakal svap örnekleri, fekal örnekler ve çevresel yüzey sürtme svap örneklerini incelemişlerdir. Bu amaçla izolasyon işlemleri için Johnson-Murano enrichment broth (JMEB) kullanmışlardır. Tüpler 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve identifikasyon için de PCR tekniği uygulanmıştır. Çalışma sonunda alınan tüm örneklerden *A. butzleri* izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Modifiye Charcoal Cefoperazone (32mg/L) Deoxycholate Agar (mCCDA), *A. butzleri* izolasyonu için ticari olarak sağlanabilmektedir. Sefoperazon (8mg/L), amfoterisin B (10mg/L)

ve teikoplanin (4mg/L) ile desteklendiğinde mCCDA besiyerinin *A. butzleri* için seçici özelliği artmaktadır. Böyle bir besiyerinde pozitif kontrol *A. butzleri* 12481 suşu beyaz-gri renkte koloniler oluşturmaktadır. Oksijeni ortamdan uzaklaştıran bir komponent olan sodyum metabisülfid yokluğunda, besiyeri *Campylobacter* spp. gelişimini baskılamaktadır (48).

Arkobakterlerin izolasyonu amacıyla uygulanan bir diğer yöntem de membran filtrasyon tekniğidir. Ön zenginleştirmeyi takiben uygulanan bu metot *Arcobacter* türlerinin hareket yeteneklerini kullanarak membran filtreden geçmesi esasına dayanmaktadır. Bu teknik kontamine mikroorganizmaları bloke ederken aynı zamanda arkobakterlerin izolasyonunu kolaylaştırmaktadır (11).

### ***Arcobacter* Türlerinin İdentifikasyonu ve Tiplendirilmesi:**

Arkobakterlerin tür düzeyinde identifikasyonları amacıyla, izolasyonları yapıldıktan sonra bakterilerin fenotipik özelliklerini esas alan biyokimyasal testler, üreme testleri ve moleküler mikrobiyolojik yöntemlerden faydalanılmaktadır (27,28,49). *Arcobacter* türlerinin birbirinden ayırımında katalaz, nitrat redüksiyonu, kadmiyuma duyarlılık, 20°C'de mikroaerobik üreme, Mac Conkey agarda üreme, %1 glisinde üreme, %3.5 NaCl'de üreme gibi fenotipik özellikler kullanılır (57).

Arkobakterlerin tanımlanmasında aynı zamanda API Campy test strips metodundan da yararlanılmıştır. Fakat bu teknikte API Campy veri tabanının grup içerisinde meydana gelen taksonomik değişiklikleri içermemesi nedeniyle başarılı sonuçlar vermediği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra tüm hücre proteinlerinin SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) tekniği ile analiz edilmesi sağlanmış ve diğer metotlarla tanımlanamayan trenn bu sayede identifiye edilebildiği bildirilmiş olup bu yöntemin API Campy test strips veya biyotiplendirmeden çok daha iyi sonuçlar verdiği ve sonuçları yorumlamanın da daha kolay olduğu savunulmuştur (3).

Şu ana kadar az sayıda biyolojik tiplendirme çalışması tanımlanmıştır. Ancak, biyotiplendirme, serotiplendirme ve protein profillerinin karşılaştırılması gibi metotların ayırım güçleri sınırlıdır ve düşük varyasyonlu fenotipik karakteristiklere dayanmaktadırlar (35).

Lior ve Woodward tarafından arkobakterlerin sahip olduğu ısıya duyarlı antijenler esas alınarak serotiplendirme şeması geliştirilmiştir. Buna göre serogrup 1 ve 5'in insan izolatları içinde en yaygın serotipler olduğu, yine serogrup 1'in kanatlı, dışkı ve su orjinli izolatlar içinde yaygın olduğu belirlenmiştir (57).

### ***Arcobacter* Türlerinin Belirlenmesinde PCR ve Multipleks PCR :**

PCR teknikleri gıda, su ve çevresel örneklerdeki mikroorganizmaları belirlemek amacıyla konvensiyonel kültür metotlarının yerine veya kombinasyonuyla kullanılmaktadır (23). Kabeya ve ark. (43), tarafından yapılan bir çalışmada 10 saha izolatu kullanılmış olup uygulanan tek aşamalı PCR tekniğinin sonuçları değerlendirilmiştir. İzolatlar cins-spesifik PCR ile *Arcobacter* cinsine dahil edilmiş ve bu çalışmada geliştirilen tek aşamalı PCR tekniğinin *Arcobacter* suşlarının tür düzeyinde identifikasyonunu sağlamada muktedir olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda kullanılan 10 örneğin 3'ü *A. cryaerophilus*, 3'ü *A. butzleri* ve 3'ü de *A. skirrowii* olarak identifiye edilmiştir. Tek aşamalı PCR ile aynı zamanda daha önceden sadece DNA-DNA hibridizasyonu ile ayırımı yapılan *A. cryaerophilus* 1A ve 1B, bu PCR tekniği ile kolaylıkla ayırtedilebilmektedir. Bu çalışmada geliştirilen tek aşamalı PCR tekniği insan ve hayvanlardaki *Arcobacter* infeksiyonlarının epidemiyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda basit, hızlı ve kullanışlı bir teknik olarak değerlendirilmiştir.

*Arcobacter* türlerinin belirlenmesi ve identifikasyonu amacıyla PCR teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerden 16S ve 23S rRNA genlerini hedef alan mPCR tekniği farklı *Arcobacter* türlerinin eş zamanlı olarak belirlenmesi ve identifikasyonu için geliştirilen bir PCR tekniğidir (23).

Harmon ve Wesley (28), *A. butzleri*'yi diğer arkobakterlerden ayırtedebilmek için bir mPCR sistemi geliştirmişlerdir. Bu teknik *Arcobacter* türlerinin identifikasyonunda önemli bir teknik olmuştur.

Houf ve ark. (42) arkobakterlerin eş zamanlı belirlenmesi ve identifikasyonu için bir mPCR tekniği bildirmişlerdir. Çünkü PCR tekniği için kullanılan templete DNA direkt olarak 24 saat kültüre edilen zenginleştirilmiş buyyonlardan ekstrakte edilmiştir. Bu teknik hızlı identifikasyon avantajını ortaya koymuştur.

Ünver ve ark. (65), tarafından yapılan bir çalışmada 2005-2006 kuzulama döneminde toplanan 32 atık kuzu örneği *Arcobacter* yönünden incelenmiştir. Çalışmada *Arcobacter* şüpheli izolattan yapılan DNA izolasyonu ve mPCR'ın ardından 257 baz çifti büyüklüğünde DNA fragmanı elde edilmiştir. Houf ve ark. nın çalışmasına göre *A. cryaerophilus*'un mPCR'da 257 baz çifti DNA fragmanı ürettiği dikkate alınarak atık kuzu örneğinden izole edilen mikroorganizma *A. cryaerophilus* olarak identifiye edilmiştir.

Gonzalez ve ark. (23), tarafından yapılan bir çalışmada 22 tavuk karaciğeri, 10 tavuk karkası ve 15 atık su örneği incelenmiş ve incelenen bu örnekler mPCR ve konvensiyonel kültür metotlarıyla *Arcobacter* yönünden analiz edilmiştir. Çalışma sonunda, 13 izolat tavuk karkasından, 4 izolat ise tavuk karaciğerinden elde edilmiş olup bu izolatlar mPCR ile *A. butzleri* olarak identifiye edilmiştir. 15 atık su örneğinin 10'undan 14 *Arcobacter* suşu izole edilmiştir. Multipleks PCR sonucu ise bu izolatlardan 7'si *A. butzleri* ve 7'si de *A. cryaerophilus* olarak identifiye edilmiştir.

Rice ve ark. (57), tarafından yapılan bir çalışmada yeraltı suyundan alınan örneklerde, PCR ile *Arcobacter* cinsine ait olduğu tespit edilen izolatlar mPCR tekniği ile tür düzeyinde *A. butzleri* olarak identifiye edilmiştir.

Winters ve ark. (72), tarafından yapılan çalışmada tamamı yerel bir marketten sağlanan et (önceden pişirilmiş hindi ve tavuk göğsü, çiğ hindi ve çiğ domuz eti), süt ve süt ürünleri (süt, yoğurt, süzme peynir, çedar peyniri, sebze (domates, marul, kereviz, havuç, mantar) ve



meyvelerden (çilek, karpuz, üzüm, kivi, elma) alınan örnekler *Arcobacter* yönünden incelenmiştir. Örneklerden elde edilen *Arcobacter* şüpheli izolatlar mPCR tekniği ile *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır.

### ***Arcobacter* Türlerinin Genotiplendirilmesi:**

Fenotipik tiplendirme metotları günümüzde hala kullanılmaktadır, fakat bu metotlar, yapıldıktan sonra yine de kesin sonuç için genotip tamelli, ayırım gücü ve tiplendirme kabiliyeti yüksek çeşitli tekniklerle desteklenmektedir. Bu teknikler arasında Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Randomly Amplified Polymorphic DNA-PCR ve PCR-RFLP gibi teknikler yer almaktadır. Son dönemlerde geliştirilen Multilocus Sequence Typing Tekniği (MLST) önemli bir yer tutar (24).

Şu ana kadar SDS-PAGE, DNA-DNA hibridizasyon ve robitiplendirmeden sonra protein paternlerinin numerik analizi dahil çok çeşitli metotlar *Arcobacter* türlerinin sınıflandırılmasında kullanılmıştır. Bu türlerin identifikasyonu amacıyla 23S rRNA genini esas alan bir PCR tekniği geliştirilmiştir. Bakteriyel patojenlerin belirlenmesi ve identifikasyonu için tür spesifik primerlerin ve problemlerin geliştirilmesinde 23S rRNA bölgeleri önemli olmuştur (42).

### **Tedavi, Koruma ve Kontrol Yöntemleri:**

*Arcobacter* türleri su, gıdalar ve sağlıklı hayvanlardan izole edilmekle beraber abort, enterit, septisemi ve mastitis gibi bazı hastalık tablolarıyla ilişkilendirilmiştir (44,65). Birçok hastalık olgusundan izole edilmesinden dolayı genus içerisinde en önemli tür *Arcobacter butzleri* olarak kabul edilmektedir. Bu etkenden ileri gelen infeksiyonların tedavisinde tıpkı kampilobakterlerden ileri gelen hastalık tablolarında önerildiği gibi tetrasiklin, önerilmesi gereken bir antibiyotiktir (3). Bunun yanısıra tedavi amacıyla önerilen diğer ilaçlar arasında eritromisin veya flourokinolonlar yer alır. Son ve ark. (60), yaptıkları bir çalışmada broyler karkaslarından izole ettikleri 174 *Arcobacter* izolatını antimikrobiyal ajanlara duyarlılık ve dirençlilik açısından incelemişlerdir. Çalışma sonunda bütün izolatların gentamisin ve tetrasikline

duyarlı olduklarını saptamışlardır. Ayrıca başka araştırmacılar da benzer çalışmalarda Arkobakterler'in kanamisin, amikasin, gentamisin ve streptomisin de dahil olduğu aminoglikozitlere duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Atabay ve Aydın yaptıkları çalışmalarda bütün *A. butzleri* suşlarının nalidiksik asite duyarlı olduklarını bildirirken, Fera ve ark. yaptıkları çalışmada flourokinolonların levofloksasin, marbofloksasin, enrofloksasin ve siprofloksasinin *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* suşlarına karşı iyi derecede aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada bütün *Arcobacter* suşlarının tetrasikline duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Buna göre tetrasiklinin insanlarda ortaya çıkan *Arcobacter* infeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozitlerle beraber kullanılabileceği ve bu şekilde daha etkili sonuçlar elde edilebileceği bildirilmiştir (60).

Fernandez ve ark. (21), kronik diyare görülen iki olguyu incelemişler ve çalışma sonunda hastalardan *A. butzleri* izole etmişlerdir. İnfeksiyonun nedeni olarak belirtilen *A. butzleri*'nin, yapılan E-test metodu sonucunda eritromisin (0.5 µg), ampisilin ( $\geq 256$  µg), gentamisin (0.75 µg), siprofloksasin (0.125 µg), kloramfenikol (64 µg) ve tetrasikline (8 µg) duyarlılık düzeylerinin aynı olduğunu göstermişlerdir. Tedavi için ise eritromisin kullanılmıştır. Antibiyotiğin kullanım şekli ise kilogram başına 50 mg olacak şekilde 10 gün süreyle 4 doza bölünmüş olarak hastaya verilme şeklinde olmuştur. Tedaviden sonra abdominal ağrı ve krampların ortadan kaybolduğu ve tedavi sonunda iki olguda da hastalardan alınan dışkı örneklerinde *A. butzleri*'nin olmadığı bildirilmiştir.

Fera ve ark. (19), tarafından yapılan bir çalışmada amikasinin *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus*'a en etkili aminoglikozit olduğu ve bu antibiyotiğin sistemik *Arcobacter* infeksiyonlarının tedavisinde faydalı bir antibiyotik olduğu; bunun yanısıra karbapenemlerin ciddi *Arcobacter* infeksiyonlarının tedavisinde en doğru seçim olduğu ve ikinci sırada yer alan anti-*Arcobacter* ilaçlarının da cefepime ve flourokinolonlar olduğu bildirilmiştir.

*A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* Almanya'da içme sularında, Tayland'da kanal sularında, İtalya'da ırmak sularında tespit edilmiştir. Klorlanmamış içme sularında *Arcobacter*'in 16 günden fazla canlılığını sürdürerek ishalleri yol açtığı, klorlama işlemi ile 5 dakika içerisinde yok olduğu belirtilmektedir (39). Asetik asit ve sitrik asitin (>%0.2) *A. butzleri*'yi inhibe ettiği ifade edilmektedir (58).

*A. butzleri* suşlarının inaktif hale getirilmesi amacıyla limon, portakal, bergamot yağları ve bileşimlerinin etkileri incelenmiştir. Bergamot yağının ve linalonol bileşiğinin en etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada tarçın, kamomil, adaçayı ve biberiye ekstraktlarının *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii*'ye karşı çok güçlü antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir (39).

Hayvan ve su kaynaklı bir bakteri olduğu için içme suları ve kontamine gıdalar için gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir (39). Bununla ilgili olarak yapılan inaktivasyon çalışmaları sonucunda *A. butzleri*'nin klora duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzden, normal koşullarda içme suları üzerinde uygulanan dezenfeksiyon işlemleri bu mikroorganizmaların kontrolünde yeterli olmaktadır (57).

## **1. 2. *Arcobacter* Türlerinin Su Kaynakları Açısından Epidemiyolojisi:**

Arkobakterler koyular, yer altı suları, yüzey suları, lağım suları ve deniz suyu da dahil dünya üzerinde farklı birçok su kaynağında belirlenmişlerdir (59).

Driessche ve Houf birlikte yaptıkları bir çalışmada inceledikleri su örneklerinde sadece *A. cryaerophilus* izole etmişlerdir. Toplama tank suyundan aldıkları örneklerde 3 farklı genotipte ve su dağıtım borularından sağladıkları örneklerde de 2 farklı genotipte izolat elde ettiklerini bildirmişlerdir (16).

Rice ve ark. (57), *Arcobacter* izolasyonu amacıyla yer altı suları üzerinde çalışmışlardır. İnceledikleri kontamine yer altı suyu kaynağından *A. butzleri* izole etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada izole ettikleri *A. butzleri* suşunun klora olan duyarlılık/dirençlilik özelliğini araştırmışlar ve çalışma sonunda *A. butzleri*'nin klora duyarlı olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda klordanmamış suda *A. butzleri*'nin bulunması etkenin bir kontaminasyon kaynağı olabileceğini göstermektedir. Özellikle bu bakterinin içme suyu kaynaklarından izole edilmesi onun su kökenli bir patojen olarak potansiyel bir role sahip olduğunun da göstergesidir.

Diergaardt ve ark. (13), Güney Afrika'da farklı su kaynakların sağladıkları örneklerle bir çalışma yapmışlardır. Bu su kaynakları içme suyu, yer altı suyu, yüzey suyu ve işlenmemiş lağım suyu olmak üzere 4 farklı su kaynağından oluşmaktaydı. Elde edilen izolatların çoğu yüzey sularından sağlanan örneklerden elde edilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen 100 izolattın ve ikisi *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır.

Yine Diergaardt ve ark. (12), çevresel su örnekleriyle yaptıkları başka bir çalışmada elde edilen 221 izolattın 8'i *Campylobacter* cinsine ait olurken 4'ü de *Arcobacter* cinsine dahil olan *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır.

Lağım suyu ve atık sularla yapılan bir çalışmada işlenmemiş 15 lağım suyu örneğinin tamamında (%100 pozitif); hava ve oksijenle müdahale edilmiş 15 atık su örneğinin 13'ünde (%87) ve dezenfekte edilmiş 15 atık su örneğinin 10'unda *A. cryaerophilus* varlığını ortaya koymuşlardır (51).

Driessche ve ark. Belçika'da bir çiftlikten sağladıkları 7 su örneği üzerinde yaptıkları bir çalışmada ön zenginleştirme işleminden sonra *Arcobacter* yönünden 5 pozitif sonuç elde etmişlerdir. 2 örnekten *A. butzleri*, bir tanesinden de *A. cryaerophilus* izolatu elde edilmiştir. Fakat elde edilen izolatların farklı genotiplere sahip olduğu bildirilmiştir (15).

Fera ve ark. (20), Akdenizin kıyusal çevresinden yüzeysel deniz suyu ve plankton örnekleri üzerinde çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmada *Arcobacter* spp. ilişkili deniz suyu ve küçük ve büyük planktonlarda sıradan kültürel metotlar ve *Arcobacter*-spesifik PCR testleri aracılığıyla gerekli sonuçları elde etmişlerdir. Fenotipik testlere dayalı olarak bazı izolatlar *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır. Su ve plankton örneklerindeki *Arcobacter* spp. varlığı PCR analizi ile kolaylıkla ortaya konmuştur. Bu çalışmanın insan ve hayvan hastalıklarıyla ilişkili olan *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii*'nin kıyusal deniz suyundan izole edildiği ilk çalışma olduğu da bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, sularda *Arcobacter* prevalansının değerlendirilmesinin, bu yeni türlerin zoonotik potansiyellerinin ve klinik önemlerinin belirlenmesinde faydalı olacağı da belirtilmiştir.

Gonzales ve ark. (24), tavuk ve su örnekleri ile yaptıkları bir çalışmada 20 *Campylobacter* ve 12 *Arcobacter* izolatu elde etmişlerdir. *Arcobacter* izolatlarının 7'si *A. butzleri* ve kalan 5 tanesi de *A. cryaerophilus* olarak identifiye edilmiştir.

Jacob ve ark. (41), tarafından Almanya'da 2 yıllık bir zaman dilimi içerisinde yürütülen bir çalışmada içme suyunu işleyen 6 fabrikadan alınan su örnekleri incelenmiş ve toplam 147 adet *Campylobacter*-benzeri suş izole edilmiştir. Elde edilen izolatlar biyotiplendirme ve serotiplendirme yöntemleriyle karakterize edilmişlerdir. Yapılan bu çalışma sonunda 100 adet suş *A. butzleri* olarak tiplendirilirken, 17 suş *A. butzleri*-benzeri ve 6 suş da *Campylobacter jejuni/coli* ilarak tiplendirilmiştir. Sonuçta, işlenmemiş suda, saf sudan daha sık ortaya çıkmalarına rağmen muamele prosedürlerinin bütün evrelerinde araştırmacılar *A. butzleri* suşu elde etmişlerdir.

Yine Jacob ve ark. (40), tarafından Almanya'da birkaç aylık bir süreyi kapsayan bir çalışmada 4 farklı içme suyu rezervuarından 56 su örneği alınmış ve çalışmada elde edilen 29 suş biyotiplendirme (API Campy), serotiplendirme ve SDS-Disc-gel electrophoresis yöntemleriyle *A. butzleri* olarak karakterize edilmiştir.

Morita ve ark.'nın (52), birlikte yaptıkları bir çalışmada Japonya ve Tayland'da çevresel su ve tavuk eti örneklerindeki *Arcobacter* spp. nin prevalansı araştırılmıştır. Çalışmada Japonya'dan sağlanan 17 nehir suyu örneğinin 4'ünde (%23'ünde) ve 41 tavuk eti örneğinin 20'sinde (%48'inde); Tayland'dan sağlanan 7 kanal suyu örneğinin tamamında (%100'ünde) ve 10 tavuk eti örneğinin de tamamında (%100'ünde) *Arcobacter* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bütün pozitif örneklerden elde edilen izolatlar arasında *A. butzleri*'nin varlığı tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, her iki ülkede de, tavuk etleri ve çevresel su örneklerinin, genetik olarak farklı *Arcobacter* populasyonu ile yüksek derecede kontamine olduğunu göstermiştir.

Gonzalez ve ark. (23), tarafından İspanya'da yapılan bir çalışmada, 22 tavuk karaciğeri, 10 tavuk karkası ve 15 atıksu örneği incelenmiştir. Tavuk örneklerinden 17 *Arcobacter* suşu izole edilmiştir ve *A. butzleri* identifiye edilen tek *Arcobacter* türü olarak bildirilmiştir. Direkt PCR tekniği ile 32 tavuk örneğinin *Arcobacter* türleri ile kontamine olduğu belirlenmiştir. En fazla

belirlenen tür *A. butzleri* iken, bazı örneklerde *A. cryaerophilus* ve nadir olarak da *A. skirrowii* varlığı belirlenmiştir. 15 su örneğinin 10 tanesinden 14 adet *Arcobacter* suşu izole edilmiştir. Bu 14 suşun 7'si *A. butzleri* ve kalan 7'si de *A. cryaerophilus* olarak tanımlanmıştır.

Yapılan bu çalışmalar, arkobakterlerin insan ve hayvanlara bulaşmasında suyun önemli bir rolü olduğunu doğrulamaktadır. Ohio'da içme suyundan kaynaklanan bir salgında, halka içilebilir su sağlayan fekal olarak kontamine yeraltı suyu kaynaklarında *Arcobacter* spp. belirlenmiştir. Su mikrobiyolojisi kalitesi intestinal patojenlerin varlığının prediktörü olarak fekal kirlenmeyi indikatörlerinin seviyesine bağlıdır. Collada ve ark. tarafından bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada arkobakterlerin fekal kontaminasyonla bir ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada *Arcobacter* spp. ile fekal kirlenmenin bakteriyel indikatörleri arasında bir ilişki olduğu doğrulanmıştır ve bu ilişkinin farklı orjinlerden elde edilen örneklerdeki önemli derecede yüksek konsantrasyondaki fekal indikatörlerin varlığında pozitif sonuç verdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda bu durum göllerden ziyade nehirlerde daha yüksek prevalansla açıklanmaktadır. Japonya'da yapılan bir çalışmada 17 nehir suyu örneğinde %23'lük bir *Arcobacter* spp. insidensi elde edilirken, bu çalışmada % 58,6'lık bir insidens elde edilmiştir (10).

İnsanlarda kontamine sulara maruz kalmak temel risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. *Arcobacter*'lerin sulardaki prevalanslarının belirlenmesi özellikle bu mikroorganizmaların zoonotik potansiyellerinin ve klinik önemlerinin belirlenmesi açısından oldukça faydalı olmaktadır (20).

### 1. 3. Çalışmanın Amacı

Arkobakterlerin su kaynaklarındaki varlıklarının belirlenmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda arkobakterlerin su ve gıda kökenli bakteriler olduğu belirtilmiştir. Bu türlerin özellikle su ile yakın ilişkili olan hayvanlardan daha yüksek oranda izole edilmesi arkobakterlerin bulaşmasında su kaynaklarının önemli bir yer tuttuğu göstermektedir. Ayrıca bu durum, suyla direk temas halinde olan hayvanlarda olduğu gibi insanlar açısından da önemli bir halk sağlığı tehdididir. Bu çalışmanın gerçekleştirildiği bölgede broyler karkaslarından (2), sağlıklı kazların kloaka örneklerinden (5) ve sağlıklı koyunların gaita örneklerinden (62) farklı

arkobakter türleri izole edilmiştir. Arkobakterlerin bu bölgede mevcut olduğu gösteren bu çalışmaların dışında bu etkenlerin bulaş kaynağı ve ekolojisi hakkında bilgi mevcut değildir. Dünya’da birçok çalışmada farklı su kaynaklarından arkobakterlerin izole edilmesi (49) akarsu ve içme sularının etkenin ekolojisinde önemli rol oynadığı ortaya koymaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmada Kars Bölge’sindeki çeşitli su kaynaklarından *Arcobacter* türlerinin izolasyonu ve elde edilen izolatların multipleks PCR ile tür düzeyinde identifikasyonlarının yapılması amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarının arkobakterlerin epidemiyolojisi ve ekolojisini ve dolayısıyla bu türlerin insan, hayvan ve gıdalara bulaşarak oluşturması muhtemel sağlık riskinin boyutlarını daha iyi anlamaya yardımcı olması beklenmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2. 1. Materyal

#### 2. 1. 1. Örnekler

Bu araştırmada Kars ili ve çevresindeki çeşitli su kaynaklarından alınan su örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Analizi yapılan materyallerin temin edildiği köy ve bölgeler Tablo 1’de belirtilmiştir.

**Tablo 1.** Toplanan su örneklerinin sayıları ve lokasyonları ile örnekleme zamanları

Örneğin alındığı lokasyon	Örneğin cinsi	Toplanma zamanları	Örnek sayıları
Kars şehir merkezi	Şebeke suyu	Mart-Nisan 2008	18
Kars Çayı	Çay	Nisan 2008	4
Kümbetli Köyü-Sanayi Bölg.	Dere	Mayıs 2008	7
Kars Çayı	Çay	Mayıs 2008	5
Arpaçay ve çevresi	Dere	Mayıs 2008	5
Kümbetli Köyü	Dere	Haziran 2008	10
Çakmak Köyü	Dere	Haziran 2008	5
Kümbetli Köyü	Dere	Ağustos 2009	7
Kümbetli Köyü	İçme suyu	Ağustos 2009	3
Dikme Köyü	Dere	Ağustos 2009	7
Dikme Köyü	İçme suyu	Ağustos 2009	3
Ölçülü Köyü	İçme suyu	Eylül 2009	8
Yalınkaya Köyü	Gölet	Eylül 2009	10
Çamçavuş Köyü	Dere	Eylül 2009	8
Çamçavuş Köyü	İçme suyu	Eylül 2009	3
Kars Çayı	Çay	Aralık 2009	10

**Toplam Örnek Sayısı: 113**



## 1. 2. Alet ve Ekipman

Araştırma süresince yapılan tüm çalışmalar Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütülmüş olup mevcut alet, araç-gereç ve sarf ve kimyasal maddelerden yararlanılmıştır.

### 2. 1. 3. Standart Suş

Danimarka Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen *A. butzleri* (DCC25) suşu standart olarak kullanıldı.

## 2.2. METOT

### 2. 2. 1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Kars ili ve çevresinde bulunan su kaynaklarından toplam 113 adet su örneği alınmıştır. Aseptik koşullarda steril şişelere alınan 30'ar ml'lik su örneği kısa zamanda laboratuvara getirilmiştir.

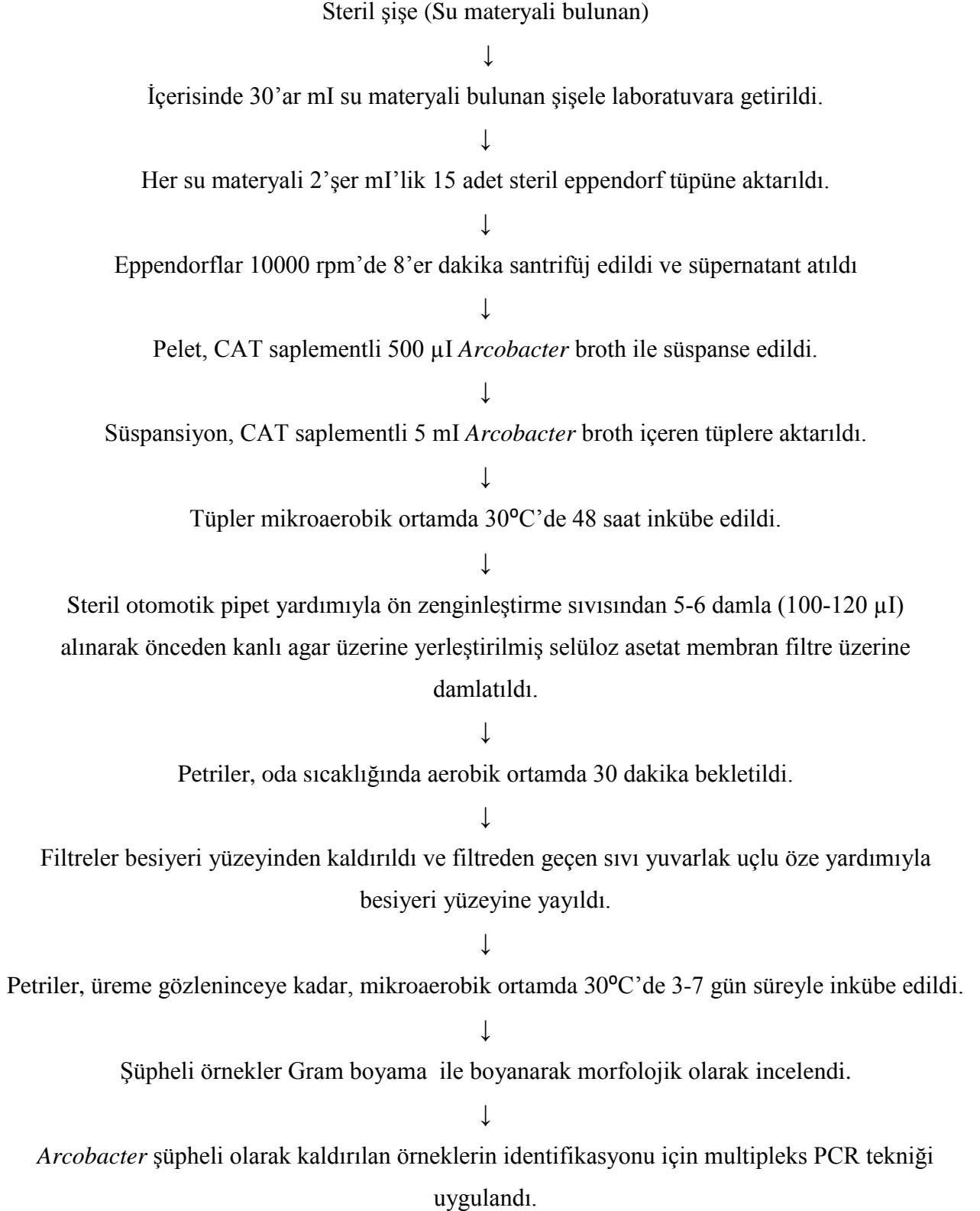
### 2. 2. 2. *Arcobacter* İzolasyonu İçin Selektif Ön Zenginleştirme

Steril şişeler içerisinde laboratuara getirilen her su örneği 2 ml lik 15 adet ependorf tüpüne aktarıldı. Ependorf tüpleri 10.000 rpm de 8 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, bütün tüplerdeki süpernatant atıldı. Tüplerdeki pelet otomatik pipet yardımıyla 500 µl lik medium (CAT ilave edilmiş *Arcobacter* selektif broth) ile süspansiyon haline getirildi. Bütün tüplerden süspansiyon edilmiş yaklaşık 500 µl lik pelet, CAT ilave edilmiş 5 ml *Arcobacter* selektif broth üzerine aktarıldı. Her örnek için aynı işlemler uygulandıktan sonra tüpler ön zenginleştirme amacıyla mikroaerobik ortamda 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bunun için, jarlara tüpler yerleştirildikten sonra mum yakılıp jarların kapakları yarı kapatılarak mikroaerobik ortam

sağlandı. Mum söndükten sonra jarlar etüve yerleştirilerek yukarıda da belirtildiği gibi 30°C' de 48 saat inkübe edildi.

### **2. 2. 3. Membran Filtrasyon Tekniği ile Katı Besiyerine İnokulasyon**

İzolasyon ve identifikasyonda Atabay ve Corry tarafından önerilen yöntem kullanıldı (3). İnkübasyon sonunda, aseptik koşullar altında, steril otomatik pipet yardımıyla ön zenginleştirme sıvısından 5-6 damla (yaklaşık 100-120µl) alınarak önceden hazırlanmış kanlı agar üzerine steril bir pens yardımıyla yerleştirilmiş 0.45 µm gözenek çaplı steril selüloz asetat membran filtreler (Millipore Corporation Billerica, MA, ABD) üzerine damlatıldı. Bu şekilde petriler oda ısısında aerobik ortamda 30 dakika bekletildi. Süre sonunda filtreler steril bir pens yardımıyla besiyeri yüzeyinden alındı. Filtrelerden besiyeri yüzeyine geçen sıvı, steril yuvarlak uçlu bir öze yardımıyla besiyeri yüzeyine çizgi ekimiyle yayıldı ve petriler 30°C'de mikroaerobik ortamda, üreme görülünceye kadar yaklaşık 3-7 gün süreyle inkübasyona bırakıldı.

**Şema 1.** Su Örneklerinden *Arcobacter* spp. İzolasyon Protokolü

#### 2. 2. 4. İzolatların Saflaştırılması ve Muhafazası

Membran filtrasyon tekniğinin uygulanmasının ve 3-7 günlük inkübasyonun ardından, kanlı agarda üreyen tüm koloniler morfolojik olarak incelendi. Besiyeri üzerinde yuvarlak, grimsi-beyaz renkte, 2-4 mm çapında, konveks yapıda olan koloniler muhtemel *Arcobacter* kolonileri olarak değerlendirmeye alındı. Muhtemel *Arcobacter* izolatları sonraki tekniklerde kullanılmak amacıyla içerisinde % 20 gliserinli *Brucella* broth bulunan steril eppendorf tüplerinde -20°C’de muhafaza edildi.

#### 2. 2. 5. DNA İzolasyonu ve multipleks PCR

Elde edilen izolatların tür düzeyinde identifikasyonu amacıyla Houf ve ark.’nın (36), geliştirdiği mPCR tekniği kullanıldı. Bu teknikte template DNA olarak kullanılmak üzere şüpheli izolatlardan kloroform ekstraksiyon yöntemi ile DNA izole edildi. Bu amaçla, kanlı agarda 30°C’de mikroaerobik ortamda inkübe edilen izolatlara ait kolonilerden 2-3 tane alınarak 200 µl steril fizyolojik tuzlu su içeren eppendorflara konuldu ve süspanse edildi. Bakteri süspanسیونuna 3 µl Proteinaz K (MBI Fermantes) ilave edilip hafifçe karıştırıldı. Daha sonra 400 µl NETS lizis tampon solusyonu (0.01 M NaCl, 1 mM EDTA [pH 8.0], 0.01 M Tris-HCl [pH 7.6], % 0.05 SDS) eklendi. Karışım hafifçe vortekslenerek 65°C’de 20 dakika blok ısıtıcıda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra eppendorflar hafifçe vortekslenip üzerlerine 600 µl kloroform/izoamilalkol (24:1 oranında) ilave edildi. Her bir eppendorf 15 saniye kuvvetlice vortekslendi ve bu sırada karışım süt rengini aldı. Sonra eppendorflar 13000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatant (üstteki berrak kısım) yeni bir steril eppendorfa aktarıldı. Üzerine 0.1 volüm 3M sodyum asetat ve 2.5 volüm soğuk absolut alkol ilave edilerek vortekslendi ve gece boyunca -20°C’de bekletildi. Ertesi gün eppendorflar 13000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Böylece presipite olan DNA pelet haline geldi. Üstteki sıvı, pelete zarar vermeden boşaltıldı. Sonra eppendorflara 1 ml %70’lik soğuk etanol eklendi. Karıştırıldıktan sonra 13000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Pelete zarar vermeden alkol boşaltıldı ve eppendorfların kurumması için oda ısısında 20 dakika beklendi. Pelet tamamen kuruduktan sonra 100 µl steril DNAaz’dan arı su eklenerek vortekslendi ve DNA süspanسیونu hazırlanmış oldu.

Multipleks PCR karışımı (40 µl) aşağıdaki gibi oluşturuldu:

10 x PCR buffer + MgCl <sub>2</sub>		4 µl
10mM dNTP mix		0.8 µl
Primer ARCO (20pmol/ml)	5'-CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC-3'	2 µl
Primer CRY 1 (20pmol/ml)	5'-TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA-3'	2 µl
Primer CRY 2 (20pmol/ml)	5'-AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC-3'	2 µl
Primer BUTZ (20pmol/ml)	5'-CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATG A-3'	2 µl
Primer SKIRR (20pmol/ml)	5'-GGC GAT TTA CTG GAA CAC A-3'	1 µl
Taq DNA polimeraz enzimi (Sigma)		0.3 µl
DNAaz free su		15.9 µl
Template DNA		10 µl

Her bir mPCR siklusu aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

Başlangıç denatürasyon aşaması	94°C	2 dk
Denatürasyon	94°C	45 sn
Primerlerin bağlanması	61°C	45 sn
Zincir uzama	72°C	30 sn

Multipleks PCR siklusu 'thermal cycler' (BioRad) kullanılarak toplam 37 siklus olacak şekilde uygulandı. PCR ürünleri % 1'lik agaroz jel yardımıyla belirlendi. Elektroforez, Tris-borik asit-EDTA (TBE) buffer solusyonu içerisinde ve 120 voltta 300 miliamperde 25 dakika olarak uygulandı. Jel etidyum bromür solusyonu ile boyandı ve DNA fragmanları ultraviyole transilluminatörle görünür hale getirildi. Jel dijital fotoğraf makinası ile dökümente edildi. Daha sonra oluşan DNA bantlarının büyüklüğü jelle beraber koşturulan 100 baz eş (bp) DNA standardı (Gene Ruler "100 bp" MBI Fermantes) ile karşılaştırılarak belirlendi.

### 3. BULGULAR

Bu çalışmada Kars ili ve çevresinde mevcut su kaynaklarından alınan 113 adet su örneği *Arcobacter* varlığı yönünden incelendi. Kars Çayı'ndan alınan 38, 106, 109, 110 ve 111 nolu; Kümbetli-sanayi bölgesinden alınan 24 ve 25 nolu; Kümbetli Köyü'nden alınan 62 nolu; Çakmak köyünden alınan 51 nolu; Dikme köyünden alınan 66 ve 70 nolu; Çamçavuş köyünden alınan 94, 95 ve 102 nolu su örneklerine ait izolatlar koloni morfolojisi, Gram boyama özelliği ve mikroskopik morfoloji (kıvrımlı, spiral şekilli) yönlerinden *Arcobacter* şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Şüpheli örneklerden yapılan mPCR tekniği ile elde edilen sonuçlar tablo 2'de belirtilmiştir.

**Tablo 2.** Kars ili ve çevresinde incelenen akarsu örneklerinde *Arcobacter* spp.'nin prevalansı

Örneklerin alındığı bölgeler	PCR Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı	% pozitif	İzole edilen tür
Kars Çayı	5 / 19	% 26	<i>A. butzleri</i>
Kümbetli Köyü-Sanayi	2 / 7	% 29	<i>A. butzleri</i>
Kümbetli Köyü	1 / 17	% 6	<i>A. butzleri</i>
Çakmak Köyü	1 / 5	% 20	<i>A. butzleri</i>
Dikme Köyü	2 / 7	% 29	<i>A. butzleri</i>
Çamçavuş Köyü	3 / 8	% 38	<i>A. butzleri</i>
<b>Toplam</b>	<b>14 / 63</b>	<b>% 22,2</b>	

Arkobakterler metabolik olarak analiz edilmeleri zor oldukları için identifikasyonları amacıyla yapılan biyokimyasal testler sınırlıdır (48,62). Bu nedenle bu çalışmada *Arcobacter* türlerinin tür düzeyinde identifikasyonları amacıyla Houf ve ark.'nın geliştirdiği mPCR tekniği kullanıldı (36). Bu sonuca göre 24, 25, 38, 51, 62, 66, 70, 94, 95, 102, 106, 109, 110 ve 111 şeklinde numaralandırılan toplam 14 adet örnek *A. butzleri* olarak identifiye edildi.

Analizi yapılan toplam 35 adet içme suyu örneğinin hiçbirinden *Arcobacter* spp. izole edilemedi (Tablo 3).

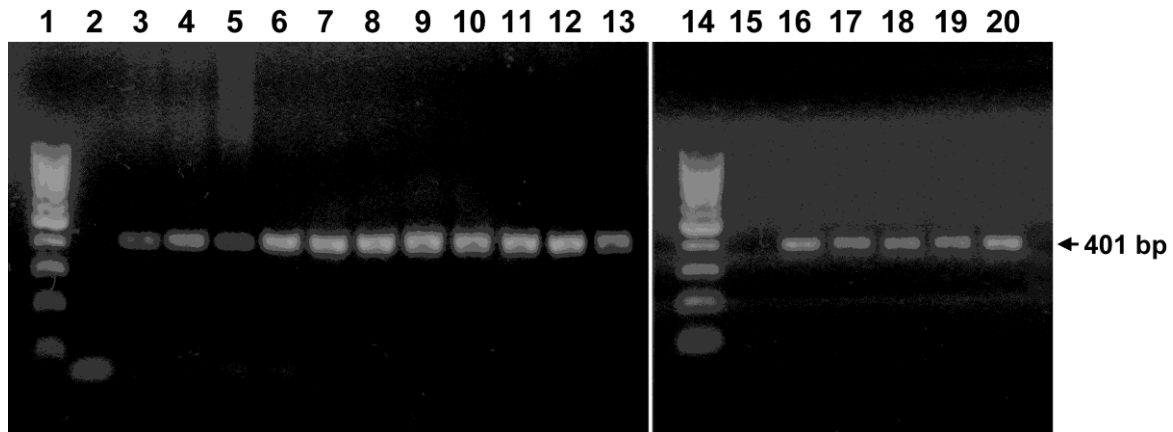
**Tablo 3.** Kars ili ve çevresinde incelenen içme suyu örneklerinde *Arcobacter* spp.'nin prevalansı

<b>Örneklerin alındığı bölgeler</b>	<b>PCR Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı</b>
Kars şehir merkezi şebeke suyu	0 / 18
Kümbetli Köyü	0 / 3
Dikme Köyü	0 / 3
Ölçülü Köyü	0 / 8
Çamçavuş Köyü	0 / 3
<b>Toplam</b>	<b>0 / 35</b>

Akarsu örneklerinden arkobakter izolasyon oranlarının örneklerin toplandığı aya göre dağılım ele alındığında, örnekleme Mart, Nisan, Mayıs, Haziran, Ağustos, Eylül ve Aralık aylarında yapılmıştır (Tablo 4). Kışın toplanan 10 örneğin dördünden (%40), sonbaharda 18 örneğin dördünden (%22.2), ilkbaharda 29 örneğin dördünden (%13.8) ve yazın 21 örneğin ikisinden (%9.5) *A. butzleri* izole edilmiştir. Sezonal dağılımı araştırmak amacıyla herbir lokasyondan farklı mevsimlerde su örneği örneklemedeki zorluklar nedeniyle gerçekleştirilememiştir. Ancak, Kars Çayı'ndan Nisan-Mayıs aylarında alınan 9 örnekte arkobakter bulunamazken aynı bölgeden Aralık ayında alınan 10 örneğin dördünden *A. butzleri* izole edilmiştir.

**Tablo 4.** *Arcobacter* pozitif akarsu örneklerinin örnekleme zamanı açısından değerlendirilmesi

Örneğin alındığı lokasyon	Toplanma zamanları	PCR Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı
Kars Çayı	Nisan	0 / 4
Kümbetli Köyü-Sanayi Böl.	Mayıs	2 / 7
Kars Çayı	Mayıs	0 / 5
Arpaçay ve çevresi	Mayıs	0 / 5
Kümbetli Köyü	Haziran	0 / 10
Çakmak Köyü	Haziran	1 / 5
Kümbetli Köyü	Ağustos	1 / 7
Dikme Köyü	Ağustos	2 / 7
Yalınkaya Köyü	Eylül	0 / 10
Çamçavuş Köyü	Eylül	4 / 8
Kars Çayı	Aralık	4 / 10

**Resim 1.** Elde edilen izolatların multipleks PCR sonucu elde edilen jel fotoğrafı

**1 ve 14:** DNA marker; **2 ve 15:** negtaif kontrol; **3 ve 16:** pozitif kontrol; **4-13:** 24, 25, 38, 51, 62, 95, 102, 106, 109,111 numaralı PCR pozitif izolatlar; **17-20** 66, 70, 94, 110 numaralı PCR pozitif izolatlar.



#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Arkobakterler insan, hayvan, gıda ve çevre orijinli farklı örneklerden izole edilebilmektedirler. Bunlar arasında *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii* türleri insanlarda enterit ve bakteriyemi ile evcil hayvanlarda ise enterit, mastit ve abort olgularıyla ilişkilendirilmişlerdir (21,55,57,60,65,70,71). İnsanlardaki invazif *A. butzleri* enfeksiyonu akut gangrenöz apandisitli bir hastada ve bir karaciğer sirozu hastasında tanımlanmıştır (73). *A. cryaerophilus* hematogenöz pnömonili bir hastanın kanından izole edilmiştir (21). Bu mikroorganizmaların insan ve hayvanların değişik numuneleri ve gıda örneklerinden izolasyonu gerçekleştirildiği gibi sulara da bu bakterilerin varlığı belirlenmiştir. Su kaynakları insan ve hayvanlar için hastalıkların bulaşması yönünden önemli bir yere sahiptir. Patojen bakteriler olarak bildirilen arkobakterlerin gıdalardan ve su kaynaklarından izole edilmeleri (33) onların gıda ve su kökenli bakteriler olduğunu düşündürmekte ve bu bakımdan kontamine su ve gıdaların başlıca bulaş kaynağı olabileceği belirtilmektedir (48). Bu çalışmada su örneklerinden *A. butzleri*'in izole ve tanımlanması bölgedeki mevcut su kaynaklarının *Arcobacter*'ler tarafından kontamine olabildiğini ve etkeni taşıyan su kaynaklarının insan ve evcil hayvanlara bulaş ve gıdaların kontaminasyonu açısından önemli bir kaynak olabileceğini göstermektedir. Bu durum ayrıca arkobakterlerin bölgede önemli bir halk sağlığı tehdidi ve riski olma ihtimalini de ortaya koymaktadır. Bu çalışma ile ülkemizde arkobakterlerin çevresel su örneklerinden izolasyonu bilindiği kadarıyla ilk defa bildirilmiştir.

*Arcobacter* yönünden suların analizi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Gonzalez ve ark. (23), tarafından İspanya'da yapılan çalışmada incelenen 15 atık su örneğinden 14 (%93) *Arcobacter* suşu izole edilmiştir. Fera ve ark. (20), tarafından çalışmaya dahil edilen deniz suyu ve plankton örneklerinde *Arcobacter*'lerin varlığı araştırılmış olup çalışma sonunda numunelerde *Arcobacter* spp belirlenmiştir. Rice ve ark. (57), yeraltı suyu örneklerinden *Arcobacter* spp. izole etmeyi başarmışlardır. Diergaardt ve ark. (12), çevresel sularla yaptıkları bir çalışmada analizini yaptıkları 60 çevresel su örneğinin %15'inde, Güney Afrika'da içme suyu, yeraltı suyu, yüzey suyu ve işlenmemiş lağım sularından aldıkları 24 su örneğinden 19 (%79) *Arcobacter* suşu izole etmişlerdir (13). Collada ve ark. (10), İspanya'da çevresel su kaynaklarıyla yaptıkları bir çalışmada freshwater, deniz suyu ve lağım suyundan elde ettikleri 205 su örneğinin 113'ünde

(%55,1) *Arcobacter* spp. belirlemişlerdir. Moreno ve ark. (51), yaptıkları bir çalışmada nehir suyu örneklerinde 9 *Arcobacter* suşu, 28 atık su örneğinde *Arcobacter* belirlemişlerdir. İçme suyu rezervlerinde, kirlenmiş akarsu ve kanal sularında *Arcobacter*'ler belirlenmiş olup bu kaynakların bulaşımında risk faktörü oldukları bildirilmiştir (39). Ülkemizde Kayseri'de yapılan bir çalışmada ise incelenen 26 su örneğinden herhangi bir arkobakter türü izole edilememiştir. Mevcut çalışmada farklı su kaynaklarından sağlanan 113 su örneğinin 14'ünde %12.4 oranında *Arcobacter* spp. yönünden pozitif sonuç alınmıştır. Bu oran dünyada %15-93 arasındaki varyasyonlu oranlar içinde en düşük olarak belirlenmiştir. Arkobakterlerle yapılan farklı çalışmalarda farklı izolasyon oranlarının elde edilmesinin örnekleme ve izolasyon amacıyla uygulanan yöntemlerin çeşitliliğine, çalışmaların yapıldığı bölgenin coğrafi ve iklimsel özelliklerinin farklılığına ve su kaynaklarının ekolojisine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Su örneklerinden izole edilen arkobakterlerin tür düzeyinde dağılımı incelendiğinde bildiriler arasında farklılık mevcuttur. İspanya'da çevresel sularla yapılan bir çalışmada incelenen 205 su örneğinin 113'ünden *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* ve izole edilmiştir. Türlerin dağılımı ise *A. butzleri* %94, *A. cryaerophilus* %30 ve *A. skirrowii* %1.8 olarak bildirilmiştir (10). Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada içme suyu, yeraltı suyu, yüzey suyu ve işlenmemiş lağım suyundan alınan toplam 24 adet su örneğinin 19'undan *A. butzleri* izole edilmiştir. Diergaardt ve ark. (12), tarafından yapılan çevresel su örneklerinin incelendiği bir çalışmada 60 su örneğinin 4'ünden *A. butzleri*'nin izole edildiği bildirilmiştir. İncelenen materyallerin içme suyu rezervuarlarından sağlandığı bildirilen bir çalışmada 56 örneğin 29'undan *A. butzleri*'nin izole edildiği belirtilmiştir (40). Fera ve ark. (20), deniz suyu ile yaptıkları bir çalışmada *Arcobacter* türlerinden sadece *A. butzleri*'yi izole edebildiklerini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada farklı su kaynaklarından izole edilen arkobakterlerin tamamı *A. butzleri* olarak tanımlanmıştır. Yapılan önceki çalışmalarda *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii* türlerinin yanısıra izole edilen dominant tür olarak *A. butzleri* belirlenmiş olması bu çalışmadaki sonuçla paralellik göstermektedir. İzole edilen türler arasındaki varyasyon gözlemlenmesinin ve mevcut çalışmada sadece *A. butzleri* türünün izole edilmesinin farklı nedenleri olabilir. Arkobakterlerin bölgedeki ekolojik ve biyolojik özelliklerinin farklılığına bağlı olarak *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii* incelenen su kaynaklarında mevcut olmayabilir yada tekniğin belirleme düzeyinin altındaki sayılarda bulunabilir. Ayrıca bu sonuç, *A. butzleri*'nin suya adaptasyon ve suda canlı kalabilme

yeteneğinin diğer arkobakterlere göre fazla olabileceğini ve su kaynaklarında arkobakterin populasyon dinamiği açısından *A. butzleri*'nin diğer türler üzerine kompetatif inhibitör etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Kars Yöresi, arkobakterlerin farklı hayvansal örneklerden ve bazı gıdalardan izole edildiği bir bölgedir. Bu bölgede klinik olarak sağlıklı kazlarda yapılan çalışmalarda *Arcobacter* prevalansı oldukça yüksek bulunmuştur. Bir çalışmada 100 sağlıklı kaza ait dışkı örneklerinin 26'sında *Arcobacter* spp. izole edilirken, 10 hindiye ait dışkı örneklerinin hiçbirinde *Arcobacter* varlığı belirlenememiştir (64). Başka bir çalışmada 90 sağlıklı kazdan alınan kloakal svab örneklerinin 16'sından arkobakter izole edilmiştir. Bu çalışmalarda, dere, çay, nehir, kanal ve lağımla karışan sulak bölgelere yakın kaz çiftliklerinde arkobakter prevalansının daha yüksek olduğu vurgulanmıştır. Mevcut çalışma sonucunda su kaynaklarında arkobakterlerin belirlenmesi bu türlerin su ile taşınan bir patojen olabileceği olgusunu desteklemektedir. Su ile ilişkili kanatlılarda arkobakterlerin bulaş kaynağı su orijinli olabileceği gibi bu kanatlıların intestinal sitemlerinde kolonize arkobakterlerinin gaita yoluyla suları kontamine etmeleri de suların bulaş kaynağı açısından önemlidir. Sudan kanatlı hayvanlara veya kanatlı hayvanların dışkıları aracılığıyla suya geçen bu patojen mikroorganizmalar, hem bölgede suyla temas halinde olan hayvanlar için hem de bu hayvanlarla uğraşan ve bu hayvanlara ait ürünleri tüketen insanlar için önemli bir risk oluşturmaktadır.

Kars Bölgesi'nde klinik olarak sağlıklı koyuna ait dışkı örneklerinden birinde *A. cryaerophilus* izole edilmiştir (62). Ayrıca, Ünver ve ark. tarafından Kars yöresinde yapılan bir çalışmada atık yapmış koyun abortlarının birinden de yine *A. cryaerophilus* izole edilmiştir (65). *A. cryaerophilus*'un bölgede mevcut olduğunu ortaya koyan bu çalışmaların aksine, mevcut çalışmada su örneklerinden *Arcobacter* türleri arasında sadece *A. butzleri* izole edilmiş olması koyunların kazlarla kıyaslandığında daha az su ilişkili hayvanlar olmasının bu sonuçla ilişkili olabileceğini ve/veya koyunlarda arkobakter bulaş kaynağı olarak sulardan farklı kaynakların önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Arkobakterlerin su örneklerinden izolasyonunda mevsimsel dağılım ele alındığında, Fera ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada Ağustos ayı haricindeki bütün aylarda toplanan deniz suyu

örneklerinde *A. butzleri* belirlenmiştir. *A. skirrowii* sadece Mart ayında belirlenirken, *A. cryaerophilus* Temmuz, Ağustos, Eylül ve Ekim aylarında toplanan örnekler dışındaki bütün deniz suyu örneklerinde tespit edilmiştir (20). Mevcut çalışmada örneklemeler Mart, Nisan, Mayıs, Haziran, Ağustos, Eylül ve Aralık aylarında yapılmış, ancak izolasyon oranları yüksekten düşüğe doğru kış, sonbahar, ilkbahar ve yaz aylarında gözlemlenmiştir. Mevcut çalışmada herbir lokasyondan farklı mevsimlerde su örneği örneklemedeki zorluklar nedeniyle gerçekleştirilemediği için çalışma sonuçlarına dayanarak arkobakterlerin mevsimsel prevalansını yorumlamak yetersiz olabilir. Ancak, bir lokasyonda (Kars Çayı) Nisan-Mayıs aylarında alınan 9 örnekten arkobakter bulunamazken aynı bölgeden Aralık ayında alınan 10 örneğin dördünden *A. butzleri* izole edilmiştir. Bu özellik dikkate alındığında, *A. butzleri* farklı aylarda sulardan izole edilebilmekle beraber soğuk mevsim şartlarda daha yüksek oranlar ile izole edilebilmektedir. Bu sonuç, arkobakterlerin düşük sıcaklıklardaki su kaynaklarına daha iyi adapte olabileceğini ve özellikle *A. butzleri*'nin bu ortamlarda daha uzun süre canlı kalabileceğini düşündürmektedir.

İçme sularında arkobakterlerin belirlendiği birçok bildiri mevcuttur. Yapılan çalışmalarda *A. butzleri*'nin klora duyarlı olduğu bildirilmiştir. Klorlanmamış içme sularında *Arcobacter*'lerin 16 günden fazla canlılığını sürdürerek ishalleri yol açtığı, klorlama işlemi ile 5 dakika içerisinde yok olduğu belirtilmektedir (39). *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* Almanya'da içme sularında, Tayland'da kanal sularında, İtalya'da ırmak sularında tespit edilmiştir (19). Diergaardt ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada içme suyu örneklerinden *Arcobacter* spp. Belirlenmemiştir (12). Mevcut çalışmada, incelenen içme suyu örneklerinin hiçbirinden *Arcobacter* spp. izole edilememiş olması Kars Bölgesi için içme-kullanma sularının arkobakter hijyeni yönünden iyi düzeyde olduğunu göstermektedir.

Arkobakterlerin su kaynaklarından izolasyonu amacıyla farklı yöntem ve teknikler kullanılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, su örnekleri öncelikle 200 µm ve 64 µm çaplı özel filtrelerden geçirilip ardından 0.2 µm çaplı membran filtrelerden geçirilerek konsantre olması sağlanmış ve süzüntü steril deniz suyuyla yıkanarak bir kısmı kültür çalışmaları için kullanılırken bir kısmı da moleküler çalışmalar için kullanılmıştır. Kültür çalışmaları için CAT selektif sapselentli *Arcobacter* broth, selektif sapselentli CCDA (cefoperazone, amphotericin B) besiyeri kullanılmıştır. Ancak, zenginleştirme besiyeri, direk

besiyeri inokulasyonu ve tanımlanmış sentetik besiyeri kullanımının *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii* izolasyonunda bazen de *A. skirrowii*'nin izolasyonunda başarısız olduğu bildirilmiştir (20). Başka bir çalışmada ise *A. skirrowii*'nin su örneklerinden izole edilememesinin nedeni olarak bu türün diğer arkobakterlere göre yavaş üreme özelliğinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (25). Mevcut çalışmada da önceki bu çalışmalarda bildirildiği gibi *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii*'nin izole edilememiş olması bu türlerin biyolojik özelliklerine bağlı olarak çalışmada kullanılan kültür ortamlarına uyum eksiklikleri ve/veya bu ortamlarada yavaş üreme özellikleri ile ilişkili olabilir. Ayrıca, Fera ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada konvensiyonel kültür işlemlerinin yanı sıra aynı su örneklerinden direk PCR tekniği uygulanmış ve bu yöntemin geleneksel kültürel yöntemlerden daha duyarlı ve pratik olduğu bildirilmiştir (20). Mevcut çalışmada su örneklerinde arkobakterlerin belirlenmesinde kültürel yöntem (önzenginleştirme ve membran filtrasyon tekniği ile kültür ortamına inokulasyon), canlı ve karakterizasyonu yapılabilecek izolat eldesiyle daha detaylı epidemiyolojik çalışmalara alt yapı hazırlayabilme amacıyla tercih edilmiştir. Su örneklerinden direk PCR ile arkobakter belirlenmesi metodu mevcut çalışmada tercih edilmiş olsaydı bu etkenlerin sulardaki prevelansının daha yüksek bulunması ve dolayısıyla arkobakterlerin su kaynaklı bulaş riskinin ciddiyetinin bu çalışmada ortaya konulandan daha yüksek olması muhtemeldir.

Arkobakterlerin tür düzeyinde identifikasyonunun biyokimyasal testlerle yapılması bu türlerin biyolojik özelliğinden dolayı zordur. Bu nedenle arkobakterlerin identifikasyonu amacıyla daha kesin, pratik ve tekrarlanabilir teknik olarak multipleks PCR geliştirilmiştir (35). Daha önceki birçok çalışmada olduğu gibi mevcut çalışmada da bu yöntem elde edilen izolatların cins ve tür düzeyinde identifikasyonunda başarıyla kullanılmıştır.

Sonuç olarak, su kaynaklarından arkobakter prevelansının belirlenmesi insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturabilen bu etkenlerin epidemiyolojisini ve ekolojisini daha iyi anlama açısından önemlidir. Mevcut çalışmada akarsu örneklerinden arkobakterlerin belirlenmiş olması bölgedeki su kaynaklarının bu etken yönünden kontamine olduğunu ve böylece insan ve hayvanlara bulaş ve gıdaların kontaminasyonu açısından risk oluşturduğunu göstermektedir. Bulaş kaynağı olarak düşünülen su kaynakları sadece etkeni taşıyan bir faktör olarak değil aynı zamanda primer infeksiyon kaynağı olarak da dikkate alınmalıdır. Su ve diğer bulaşma

kaynaklarının belirlenmesi, bunların etkinliklerinin ortadan kaldırılması veya en aza indirgenmesi, hastalıkların önlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınmasında izlenecek yol ve uygulanacak yöntemlerin oluşturulmasında önem teşkil edeceği düşünülmektedir. Bulaş kaynağı olarak mevcut çalışma dahilinde özellikle su kaynaklarının hijyen ve kontrolünün sağlanması, bu bağlamda evcil hayvanlar ve insanların temas halinde oldukları su kaynaklarının kontrolü, hayvan yetiştiricilerinin hijyen kurallarını uygulamaları koruma ve korunma amacıyla yapılabilecek önemli uygulamalar olarak düşünülmektedir. Mevcut çalışmada içme sularında herhangi bir arkobakter belirlenmemiş olmasına rağmen akarsuların içme sularını kontamine etme potansiyeli açısından içme ve kullanma suyu rezervlerinin arkobakter yönünden düzenli sanitasyonu yapılmalıdır. Bunun için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. İleriki çalışmalarda bulaş kaynağı muhtemel başka bir su öneği olarak kanal suyu örneklerinin de çalışmalara dahil edilmesi, farklı izolasyon yöntemlerinin farklı örneklemeler ile uygulanması, insan ve hayvan orijinli klinik örneklerden etken izolasyonu ve izole edilen suşların biyolojik ve genetik karakterizasyonu gerçekleştirilerek arkobakterlerin epidemiyolojisi ve ekolojisi daha detaylı anlaşılabilir.

## 5. ÖZET

Arkobakterler insan, hayvan, gıda ve çevre orijinli farklı örneklerden izole edilebilmektedirler. Bu cinse ait bazı türler insanlarda enterit ve bakteriyemi ile evcil hayvanlarda ise enterit, mastit ve abort olgularıyla ilişkilendirilmişlerdir. Bu türler ayrıca lağım sularından, içme suyu rezervuarlarından, deniz suyundan ve yeraltı sularından da izole edilmişlerdir. *Arcobacter* genusu içinde özellikle *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* halk sağlığı açısından önemli patojenlerdir. Arkobakterlerin insanlara ve hayvanlara bulaşmasında kontamine sular önemli bir rol oynamaktadır. Bu bakımdan göl, dere ve kanal suları arkobakterlerin bulaşması ve infeksiyon oluşturmaları açısından önemlidir.

Bu çalışmada, Kars ve çevresindeki farklı su kaynaklarından elde edilen toplam 113 adet su örneği *Arcobacter* izolasyonu amacıyla incelendi. Bu yöntemde, örnekler CAT supplement ilave edilmiş selektif özenleştirme buyyona ve membran filtrasyon yöntemiyle kanlı agarla inokule edildi. *Arcobacter* benzeri koloniler mikroskopik olarak incelendi ve Gram negatif, spiral şekilli basiller multipleks PCR ile tür düzeyinde identifiye edildi. İncelenen örneklerin 14 tanesi *Arcobacter* yönünden pozitif olarak belirlendi. Bu 14 izolatın tamamı *Arcobacter butzleri* olarak identifiye edildi.

Bu çalışmada, ülkemizde çevresel su örneklerinden arkobakterler ilk defa izole ve identifiye edilmiştir. Su kaynaklarından arkobakter prevalansının belirlenmesi insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturabilen bu etkenlerin epidemiyolojisini ve ekolojisini daha iyi anlamaya yardımcı olacaktır. Çalışma sonuçlarına göre, arkobakterlerin koruma, korunma ve kontrolünde bulaş kaynağı olması muhtemel suların hijyen ve kontrolünün sağlanması, evcil hayvanlar ve insanların temas halinde oldukları su kaynaklarının kontrolü, hayvan yetiştiricilerinin hijyen kurallarını uygulamaları tavsiye edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Arcobacter*, Su, Prevalans, *Arcobacter butzleri*

## 6. SUMMARY

Arcobacters can be isolated from various samples of human, animal, food and environment. Some species belong to this genus may be associated with several diseases such as enteritis and bacteraemia in humans and enteritis, mastitis and abortion in animals. These species can be isolated from sewage, seawater, reservoirs of drinking water and underground water sources. Within the genus of *Arcobacter*, *A. butzleri* and *A. cryaerophilus* are especially important pathogens for public health. The contaminated water plays an important role for transmission of arcobacters to humans and animals. For this aspect, lake, brook and channel water are significant environmental factors during the transmission of agent.

The present study aimed to isolate *Arcobacter* spp. from total of 113 water samples obtained from different sources in various places of Kars district. For culturing the organisms, enrichment with *Arcobacter* selective broth with CAT supplement and direct plating on blood agar by using membrane filtration technique were used. The *Arcobacter*-like colonies were morphologically examined and Gram negative and spiral shaped bacteria were identified at the species-level by multiplex PCR. All of the 14 samples were identified as *A. butzleri* by this technique.

This is the first report of isolation of *Arcobacter* species from environmental water samples in the country. The determination of arcobacter prevalence in water samples helps better understanding the epidemiology and ecology of these agents having a potential of risk to human and animal health. Based on the result of present study, the hygiene and surveillance of water sources and animal husbandry should be performed due the possibility of its transmission source in contact with humans and animals for successful disease control and prevention.

**Key Words:** *Arcobacter*, Water, Prevalence, *Arcobacter butzleri*



## 7. KAYNAKLAR

1. **ANDERSON, K. F., KIEHLBAUCH, J. A., ANDERSON, D. C., McCLURE, H. M., WACHSMUTH, I. K.:** *Arcobacter (Campylobacter) butzleri*-Associated diarrheal Illness in a Nonhuman Primate Population. *Infection and Immunity*. 61(5): 2220-2223, 1993.
2. **ATABAY, H. I., AYDIN, F., HOUF, K., ŞAHİN, 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. *International Journal of Food Microbiology*. 81: 21-28, 2003.
3. **ATABAY, H. I., AYDIN, F.:** Mast Antimikrobik Rezistotiplendirme Metodunun Broylerlerden İzole edilen *Arcobacter butzleri* Suşlarına Uygulanması. *Vet. Bil. Derg.* 17(1): 149-152, 2001.
4. **ATABAY, H. I., CORRY, J. E. L.:** Evaluation of a new arcobacter enrichment medium and comparison with two media developed for enrichment of *Campylobacter* spp. *International Journal of Food Microbiology*. 41: 53-58, 1998.
5. **ATABAY, H. I., UNVER, A., ŞAHİN, M., OTLU, S., ELMALI, M., YAMAN, H.:** Isolation of various *Arcobacter* species from domestic geese (*Anser anser*). *Veterinary Microbiology*. 128: 400-405, 2008.
6. **AYDIN, S., ENGIN, M.:** A Comparative Investigation of *Arcobacter cryaerophilus* Infection among Albino Crosses and High-and low-Body-Weight Rainbow Trout. *Journal of Aquatic Animal Health*. 14: 39-44, 2002.
7. **BOUDREAU, M., HIGGINS, R., MITTAL, K. R.:** Biochemical and serological Characterization of *Campylobacter cryaerophila*. *Journal of Clinical Microbiology*. 29(1): 54-58, 1991.
8. **BRIGHTWELL, G., MOWAT, E., CLEMENS, R., BOEREMA, J., PULFORT, D. J., ON, S. L.:** Development of a multiplex and real time PCR assay for the specific detection of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus*. *Journal of Microbiological Methods*. 68: 318-325, 2007.
9. **CARBONE, M., MAUGERI, T. L., GIANNONE, M., GUGLIANDOLO, C., MIDIRI, A., FERA, M. T.:** Adherence of environmental *Arcobacter butzleri* and *Vibrio* spp. isolates to epithelial cells in vitro. *Food Microbiology*. 20: 611-616, 2003.

10. **COLLADO, L., INZA, I., GUARRO, J., FIGUERAS, M. J.:** Presence of *Arcobacter* spp. in environmental waters correlates with high levels of fecal pollution. *Environmental Microbiology*. 10(6): 1635-1640, 2008.
11. **COLLINS, C. I., WESLEY, I. V., MURANO, E. A.:** Detection of *Arcobacter* spp. in Ground Pork by Modified Plating methods. *Journal of Food Protection*. 59(5): 448-452, 1996.
12. **DIERGAARDT, S. M., VENTER, S. N., CHALMERS, M., THERON, J., BRÖZEL, V. S.:** Evaluation of the Cape Town protocol for the Isolation of *Campylobacter* spp. from Environmental Waters. *Water SA*. 29(2): 225-229, 2003.
13. **DIERGAARDT, S. M., VENTER, S. N., SPREETH, A., THERON, J., BRÖZEL, V. S.:** The occurrence of campylobacters in water sources in South Africa. *Water Research*. 38: 2589-2595, 2004.
14. **DONACHIE, S. P., BOWMAN, J. P., ON, S. L. W., ALAM, M.:** *Arcobacter halophilus* sp. nov., the first obligate halophile in the genus *Arcobacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1271-1277, 2005.
15. **DRIESCHE E. V., HOUF, K., VANGROENWEGHE, F., NOLLET, N., ZUTTER, L., VANDAMME, P., HOOF, J. V.:** Occurrence and strain diversity of *Arcobacter* species isolated from healthy Belgian pigs. *Research in Microbiology*. 155: 662-666, 2004.
16. **DRIESCHE, E. V., HOUF, K.:** **PROCESSING, PRODUCTS, AND FOOD SAFETY:** Discrepancy Between the Occurrence of *Arcobacter* in Chickens and Broiler Carcass Contamination. *Poultry Science*. 86: 744-751, 2007.
17. **EIFERT, J. D., CASTLE, R. M., PIERSON, F. W., LARSEN, C. T., HACKNEY, C. R.:** Research Note: Comparison of Sampling Techniques for detection of *Arcobacter butzleri* from Chickens. *Poultry Science*. 82: 1898-1902, 2003.
18. **ERTAŞ, N., DOĞRUER, Y.:** Sığır ve Koyun Kıymalarında *Arcobacter* Türlerinin Bulunma Sıklıklarının Multipleks PCR Tekniği ile Belirlenmesi. *F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.* 23(2): 95-100, 2009.
19. **FERA, M. T., MAUGERI, T. L., GIANNONE, M., GUGLIANDOLO, C., LA CAMERA, E., BLANDINO, G., CARBONE, M.:** In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 21: 488-491, 2003.

20. **FERA, M. T., MAUGERÌ, T. L., GUGLIANDOLO, C., BENINATI, C., GIANNONE, M., LA CAMERA, E., CARBONE, M.:** Detection of *Arcobacter* spp. in the Coastal Environment of the Mediterranean Sea. *Applied and Environmental Microbiology*. 70(3): 1271-1276, 2004.
21. **FERNANDEZ, H., KRAUSES., VILLANUEVA, M. P.:** *Arcobacter butzleri* an emerging enteropatogen: Communication of two cases with chronic diarrhea. *Brazilian Journal of Microbiology*. 35: 216-218, 2004.
22. **GOLLA, S. C., MURANO, E. A., JOHNSON, L. G., TIPTON, N. C., CUREINGTON, E. A., SAWELL, J. W.:** Determination of the Occurrence of *Arcobacter butzleri* in Beef and Dairy Cattle from Texas by Various Isolation Methods. *Journal of Food Protection*. 65(12): 1849-1853, 2002.
23. **GONZALEZ, A., BOTELLA, S., MONTES, R. M., MORENO, Y., FERRUS, M. A.:** Direct Detection and Identification of *Arcobacter* Species by Multiplex PCR in Chicken and Wastewater Samples from Spain. *Journal of Food Microbiology*. 70(2): 341-347, 2007.
24. **GONZALEZ, A., FERRUS, M. A., GONZALEZ, R., HERNANDEZ, J.:** Molecular fingerprinting of *Campylobacter* and *Arcobacter* isolated from chicken and water. *International Microbiology*. 10: 85-90, 2007.
25. **GONZALEZ, I., GARCIA, T., ANTOLIN, A., HERNANDEZ, P. E., MARTIN, R.:** Development of a combined PCR-culture technique for the rapid detection of *Arcobacter* spp. in chicken meat. *Letters in Applied Microbiology*. 30: 207-212, 2000.
26. **GUGLIANDOLO, C., IRRERA, G. P., LENTINI, V., MAUGERI, T. L.:** Pathogenic *Vibrio*, *Aeromonas* and *Arcobacter* spp. associated with copepods in the Straits of Messina (Italy). *Baseline / Marine Pollution Bulletin*. 56: 580-606, 2008.
27. **HARMON, K. M., WESLEY, I. M.:** Identification of *Arcobacter* isolates by PCR. *Letters in Applied Microbiology*. 23: 241-244, 1996.
28. **HARMON, K. M., WESLEY, I. V.:** Multiplex PCR for the identification of *Arcobacter* and differentiation of *Arcobacter butzleri* from other *Arcobacters*. *Veterinary Microbiology*. 58: 215-227, 1997.
29. **HIGGINS, R., DEGRE, R.:** Isolation of Spirillum-like organisms from pig and bovine fetuses. *Vet. Rec.* 104: 262-263, 1979a.

30. **HIGGINS, R., DEGRE, R.:** Isolation of Spirillum-like organisms from pig and bovine fetuses. *Vet. Rec.*104: 559, 1979b.
31. **HIGGINS, R., MESSIER, S., DAIGNAULT, D., LORANGE, M.:** *Arcobacter butzleri* isolated from a diarrhoeic non-human primate. *Laboratory Animals.* 33:87-90, 1999.
32. **HILTON, C., HOMES, K., SPEARS, K., MANSFIELD, L. P., HARGREAVES, A., FORSYTHE, S. J.:** *Arcobacter*, newly emerging food and waterborne pathogens. *Reviews in medical microbiology.* 11: 161-170, 2000.
33. **HO, H. T. K., LIPMAN, L. J. A., GAASTRA, W.:** *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent!. *Veterinary Microbiology.* 115: 1-13, 2006.
34. **HOA, T. K., LIPMAN, L. J. A., HENDRIKS, H. G. C. J. M., TOOTEN, P.C. J., ULTEE, T., GAASTRA, W.:** Interaction of *Arcobacter* spp. with human and porcine intestinal epithelial cells. *Immunol Med. Microbiol.* 50: 51-58, 2007.
35. **HOUF, K., DE ZUTTER, L., HOOF, J. V., VANDAMME, P.:** Assessment of the Genetic Diversity among *Arcobacters* Isolated from Poultry Products by Using Two PCR-Based Typing Methods. *Applied and Environmental Microbiology.* 68(5): 2172-2178, 2002.
36. **HOUF, K., DEVRIESE, L. A., ZUTTER, L. D., HOOF, J. V., VANDAMME, P.:** Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products. *International Journal of Food Microbiology.* 71: 18-196, 2001.
37. **HOUF, K., ON, S. L. W., COENYE, T., MAST, J., HOOF, J. V., VANDAMME, P.:** *Arcobacter cibarius* sp. nov., isolated from broiler carcasses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 55: 713-717, 2005.
38. **HSUEH, P.-R., TENG, L.-J., YANG, P.-C., WANG, S.-K., CHANG, S.-C., HO, S.-W., HSIEH, W.-C., LUH, K.-T.:** Bacteremia caused by *Arcobacter cryaerophilus* 1B. *Journal of Clinical Microbiology.* 35(2): 489-491, 1997.
39. **IRKIN, R., KORUKLUOĞLU, M.:** Gıda Kaynaklı Bir Patojen: *Arcobacter*. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs 2008, ERZURUM.
40. **JACOB, J., LIOR, H., FEUERPFEL, I.:** Isolation of *Arcobacter butzleri* from a Drinking Reservoir in Eastern Germany. *Zbl. Hyg.* 193: 557-562, 1993.

41. **JACOB, J., WOODWARD, D., FEUERPFEIL, I., JOHNSON, W.:** Isolation of *Arcobacter butzleri* in raw water and drinking water treatment plants in Germany. Zent. bl. Hyg. Umweltmed. 201: 189-198, 1998.
42. **JOHNSON, L. G., MURANO, E. A.:** Lack of a Cytolethal Distending Toxin among *Arcobacter* Isolates from Various Sources. Journal of Food Protection. 65(11): 1789-1795, 2002.
43. **KABEYA, H., KOBAYASHI Y., MARUYAMA, S., MIKAMI, T.:** One-step polymerase chain reaction-based typing of *Arcobacter* species. International Journal of Food Microbiology. 81: 163-168, 2003.
44. **KABEYA, H., MARUYAMA, S., MORITA, Y., KUBO, M., YAMAMOTO, K., ARAI, S., IZUMI, T., KOBAYASHI, Y., KATSUBE, Y., MIKAMI, T.:** Distribution of *Arcobacter* species among livestock in Japan. Veterinary Microbiology. 93: 153-158, 2003.
45. **KIEHLBAUGH, J. A., BRENNER, D. J., NICHOLSON, M. A., BAKER, C. N., PATTON, C. M., STEIGERWALT, A. G., WACHSMUTH, I. K.:** *Campylobacter butzleri* sp. nov. Isolated from humans and Animals with Diarrheal Illness. Journal of Clinical Microbiology. 29(2): 376-378, 1991.
46. **LEHNER, A., TASARA, T., STEPHAN, R.:** Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen. International Journal of Food Microbiology. 102: 127-135, 2005.
47. **LOGAN, E. F., NEILL, S. D., MACKIE, D. P.:** Mastitis in dairy cows associated with an aerotolerant *Campylobacter*. Vet. Rec. 110: 229-230, 1982.
48. **MANSFIELD, L. P., FOTSYPHE, S. J.:** *Arcobacter butzleri*, *A. skirrowii* and *A. cryaerophilus* – potential emerging human pathogens. Reviews in Medical Microbiology. 1(3): 161-170, 2000.
49. **McCLUNG, C. R., PATRIQUIN, D. G., DAVIS, R. E.:** *Campylobacter nitrofigilis* sp. nov., a Nitrogen-Fixing Bacterium Associated with Roots of *Spartina alterniflora* Loisel. International Journal of Systematic Bacteriology. 33(3): 605-612, 1983.
50. **MORENO, Y., ALONSO, J. L., BOTELLA, S., FERRUS, M. A., HERNANDEZ, J.:** Survival and injury of *Arcobacter* after artificial inoculation into drinking water. Research in Microbiology. 155: 726-730, 2004.

51. MORENO, Y., BOTELLA, S., ALONSO, J. L., FERRUS, M. A., HERNANDEZ, M., HERNANDEZ, J.: Specific detection of *Arcobacter* and *Campylobacter* Strains in Water and sewage by PCR Fluorescent In Situ Hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(2): 1181-1186, 2003.
52. MORITA, Y., MARUYAMA, S., KABEYA, H., BOONMAR, S., NIMSUPHAN, B., NAGAI, A., KOZAWA, K., NAKAJIMA, T., MIKAMI, T., KIMURA, H.: Isolation and Phylogenetic analysis of *Arcobacter* spp. in Ground Chicken Meat Environmental Water in Japan and Thailand. *Microbiol. Immunol.* 48(7): 527-533, 2004.
53. NEILL, S. D., CAMPBELL, J. N., O'BRIEN WEATHERUP, S. T. C., ELLIS, W. A.: Taxonomic Position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov.: *International Journal of Systematic Bacteriology*. 35(3): 342-356, 1985.
54. OK ANADUT, F., GÜMÜŞSOY, K. S.: Kayseri'de Tüketime Sunulan Kanatlı Etlerinden *Arcobacter* spp.'nin İzolasyonu. *Journal of Health Sciences*. 14(2): 125-131, 2005.
55. ON, S. L., JENSEN, T. K., BILLE-HANSEN, V., JORSAL, S. E., VANDAME, P.: Prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. isolated from the internal organs of spontaneous porcine abortions in Denmark. *Vet Microbiol.* 85:159-67, 2002.
56. PHILIPS, A.: *Arcobacter* spp. in food: isolation, identification and control. *Trends in Food Science & Technology*. 12: 263-275, 2001.
57. RICE, E. W., RODGERS, M. R., WESLEY, I. V., JOHNSON, C. H., TANNER, S. A.: Isolation of *Arcobacter butzleri* from ground water. *Letters in Applied Microbiology*. 28: 31-35, 1999.
58. SAVAŞAN, S., ÇİFTÇİ, A.: *Arcobacter* Türleri: Genel Özellikler ve Sınıflandırma. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. 1(2): 37-48, 2003.
59. SNELLING, W. J., MATSUDA, M., MOORE, J. E., DOOLEY, J. S. G.: Rewiev.Under the Microscope: *Arcobacter*. *Letters in Applied Microbiology*. 42: 7-14, 2006.
60. SON, I., ENGLER, M. D., BERRANG, M. E., FEDORKA-CRAY, P. J., HARRISON, M. A.: Antimicrobial resistance of *Arcobacter* and *Campylobacter* from broiler carcasses. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 29: 451-455, 2007.
61. SUAREZ, D. L., WESLEY, I. V., LARSON, D. J.: Detection of *Arcobacter* species in gastric samples from swine. *Veterinary Microbiology*. 57:325-336, 1997.

62. **SURMELI, P.:** Kars ili ve çevresinde yetiştirilen koyunlardan alınan dışkı örneklerinde *Arcobacter* türlerinin prevalansının araştırılması. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
63. **TAYLOR, D. N., KIEHLBAUCH, J. A., TEE, W., PITARANGSI, C., ECHEVERRIA, P.:** Isolation of Group 2 Aerotolerant *Campylobacter* Species from Thai Children with Diarrhea. *The Journal of Infectious Diseases*. 163: 1062-1067, 1991.
64. **UĞUR, M.:** Evcil kazlarda (*Anser anser*) *Arcobacter* spp. prevalansının araştırılması. Kafkas Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
65. **ÜNVER, A., ATABAY, H. I., ŞAHİN, M., KALAYCIOĞLU, A. T., ÇELEBİ, Ö., GENÇTAV, K.:** *Arcobacter* Türlerinin Atık kuzulardan İzolasyonu ve Multipleks PCR ile İdentifikasyonu. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 12(2): 117-120, 2006.
66. **VANDAMME, P., FALSEN, E., ROSSAU, R., HOSTE, B., SEGERS, P., TYTGAT, R., DE LEY, J.:** Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* Taxonomy: Emendation of Generic Descriptions and Proposal of *Arcobacter* gen. nov.: *International Journal of Systematic Bacteriology*. 41(1): 88-103, 1991.
67. **VANDAMME, P., GOOSSENS, H.:** Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter*: A Review. *Zbl. Bact.* 276: 447-472, 1992.
68. **VANDAMME, P., PUGINA, P., BENZI, G., ETTERIJCK, R. V., VLAES, L., KERSTERS, K., BUTZLER, J.-P., LIOR, H., LAUWERS, S.:** Outbreak of Recurrent Abdominal Cramps Associated with *Arcobacter butzleri* in an Italian School. *Journal of Clinical Microbiology*. 30(9): 2335-2337, 1992.
69. **VANDAMME, P., VANCANNYT, M., POT, P., MELS, L., HOSTE, B., DEWETTINCK, D., VLAES, L., VAN DEN BORRE, C., HIGGINS, R., HOMMEZ, J., KERSTERS, K., BUTZLER, J.-P., GOOSSENS, H.:** Polyphasic Taxonomic Study of the Emended Genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. nov., an Aerotolerant Bacterium Isolated from Veterinary Specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 42(3): 344-356, 1992.
70. **WESLEY, I. V., BAETZ, A. L.:** Naturel and Experimental Infections of *Arcobacter* in Poultry. *Poultry Science*. 78: 536-545, 1999.
71. **WESLEY, I. V., WELLS, S. J., HARMON, K.M., GREEN, A., SCHROEDER-TUCKER, L., GLOVER, M., SIDDIQUE, I.:** Fecal Shedding of *Campylobacter* and

*Arcobacter* spp. in Dairy Cattle. Applied and Environmental Microbiology. 66(5): 1994-2000, 2000.

**72. WINTERS, D. K., SLAVIK, F.:** Multiplex PCR detection of *Campylobacter jejuni* and *Arcobacter butzleri* in food products. Molecular and Cellular Probes. 14: 95-99, 2000.

**73. YAN, J.-J., KO, W.-C., HUANG, A.-H., CHEN, H.-M., JIN, Y.-T., WU, J.-J.:** *Arcobacter butzleri* Bacteremia in a Patient with Liver Cirrhosis. J. Formos. Med. Assoc. 99: 166-169, 2000.



## 8. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Kars'ta doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi burada tamamladıktan sonra 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. 2006 yılında buradan mezun oldum. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazanarak Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım. Şu anda aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.