

## Tavuk Orijinli *Campylobacter coli* ve *Campylobacter jejuni*'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile İdentifikasyonu\*

Hasan Basri ERTAŞ, Burhan ÇETİNKAYA, Adile MUZ, Hasan ÖNGÖR  
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 23119, Elazığ - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.10.2001

**Özet:** Bu çalışmada *Campylobacter*lerin kanatlı bağırsaklarından ve karaciğerlerinden izolasyonu ve *Campylobacter coli* ve *Campylobacter jejuni*'nin hem klasik yöntemlerle hem de Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile identifikasyonu amaçlandı. *C. coli* ve *C. jejuni*'nin PZR ile identifikasyonunda her iki türe ait *ceuE* genine spesifik dört farklı primer kullanıldı.

Kültür ve PZR yöntemiyle incelenen 150 kanatlı bağırsak ve karaciğer numunesinden toplam 25 (% 16,6) *C. coli* ve 32 (% 21,3) *C. jejuni* identifiye edildi.

Sonuç olarak PZR yönteminin daha kısa sürede sonuç vermesi ve doğruluğu nedeniyle bu iki türün ayırımında klasik identifikasyon yöntemlerine alternatif olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, PZR, tavuk, *ceuE*

### Identification of Chicken Originated *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by Polymerase Chain Reaction (PCR)

**Abstract:** The purpose of this study was to isolate *Campylobacter* species from the intestines and livers of chicken and to identify *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by both conventional methods and Polymerase Chain Reaction (PCR). Four specific primers derived from the *ceuE* gene present in the genomes of *C. coli* and *C. jejuni* were used for PCR identification.

In the examination of 150 intestine and liver samples by culture and PCR, 25 (16.6%) and 32 (21.3%) were identified as *C. coli* and *C. jejuni*, respectively.

It was concluded that the PCR assay used in this study may successfully be applied for the differentiation of these species as an alternative to conventional methods, owing to its accuracy and speed.

**Key Words:** *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, PCR, chicken, *ceuE*

### Giriş

*Campylobacter coli* ve *Campylobacter jejuni* tüm dünyada insanlarda görülen ishallerin en önemli etkenleri arasındadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ishal ve enteritis vakalarından çoğunlukla termofilik *Campylobacter*'lerin, bunlardan da özellikle *C. coli* ve *C. jejuni*'nin sorumlu olduğu ortaya konmuştur (1-3). İnsanlar için taşıdığı risklerin yanısıra *C. coli* ve *C. jejuni*'nin çiftlik hayvanlarında da abortuslara neden olduğu bildirilmiştir (4,5).

*Campylobacter* enteritisi daha çok gıda kaynaklı bir hastalık olarak bilinmektedir. İnsanlar çoğunlukla su, hayvansal kaynaklı süt, et gibi gıdaları tüketmek suretiyle enfekte olmaktadır. (6-8). Pekçok hayvan türü bağırsaklarında *Campylobacter*'lerin konakçılığını yapmaktadırlar. Bu hayvanlardan yabani kuşlar ve kanatlılar en önemli taşıyıcıdır (6,9).

*C. coli* ve *C. jejuni* birçok ortak fenotipik karaktere sahiptir. *Campylobacter*'lerin üreme ihtiyaçları ve ortak karakterleri onların mikrobiyolojik tespitini ve

\* Bu çalışma TÜBİTAK (VHAG-1603) tarafından desteklenen projenin bir bölümüdür.

identifikasyonlarını oldukça zaman alıcı ve hassas bir işlem haline getirmektedir. Birbirine çok yakın olan bu *Campylobacter* türlerinin biyokimyasal ve serolojik olarak ayırt edilmesi oldukça problemlidir. Bu ayırım çoğunlukla *C. coli*'nin Na-hippurat'ı hidrolize etmesi esasına dayanır ki, bu da her zaman doğru sonuç vermemektedir (10-12). Hippurat hidrolizi testine tamamlayıcı olmak ve bu iki türün ayırt edilebilmesini kolaylaştırmak için oligonükleotidler, klonlanmış DNA parçaları, spesifik hibridizasyon problemleri gibi birçok moleküler identifikasyon ve ayırım metodları geliştirilmiştir (13,14). Bunların dışında *Campylobacter*'lerin 16S yada 23S rRNA genlerine spesifik PZR uygulamalarıyla spesifik identifikasyon çalışmaları da yapılmıştır (15,16). Bu tekniklerin bazısı *Campylobacter*'lerin kesin identifikasyonunu sağlayabilmiş ise de, yöntemlerin çoğunluğu karmaşık ve birçoğu radyoaktif madde ile işaretli prob kullanımı gerektirdiğinden rutin klinik kullanımlar için uygun değildir. Ayrıca bu metodların çoğunluğu özellikle termofilik *Campylobacter*'ler gibi birbirine çok yakın türlerin ayırımında yetersiz kalmaktadırlar (17,18).

*Campylobacter*'lere spesifik yeni bir hedef genin tespit edilmesi bu cins içindeki bakterilerin tespiti ve identifikasyonunda önemli bir imkan sağlamıştır (19,20). Hem *C. coli* hem de *C. jejuni*'de tanımlanan ve 34.5-36.2 kDa ağırlığında bir lipoprotein komponentini kodlayan bu gen *ceuE* geni olarak isimlendirilmektedir (21,22). Bu gen bölgesine spesifik olarak hazırlanan primerler kullanılarak yapılan PZR denemelerinde *C. coli* ve *C. jejuni*'nin farklı molekül ağırlığında bantlar meydana getirdiği tespit edilmiş ve bu gene spesifik primerlerin birbirine çok yakın olan bu iki farklı termofilik *Campylobacter* türünü ayırt edebildiği ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada bu iki etken dışındaki diğer *Campylobacter* türleri ile diğer birçok Gram negatif bakteri de kullanılmış ancak sadece *C. coli* ve *C. jejuni* ile spesifik bantlar elde edildiği bildirilmiştir (10).

Bu çalışmada *C. coli* ve *C. jejuni*'nin ortak DNA bölgesi olan *ceuE* genine spesifik olarak hazırlanmış dört farklı primerin kullanımına dayalı PZR ile bu iki türün saptanması ve ayırt edilmesi amaçlandı. Dolayısıyla insan ve hayvan sağlığını yakından etkileyen bu iki termofilik *Campylobacter* türünün tespiti ve identifikasyonunda daha duyarlı ve hızlı moleküler bir yöntem olan PZR tekniğinin uygulanabilirliği araştırıldı.

## Materyal ve Metot

**İzolasyon:** Bu çalışmada 150 adet broiler tavuktan kesim esnasında alınan bağırsak içerikleri ve karaciğerler *Campylobacter*'ler yönünden incelendi. Numuneler alındıktan hemen sonra laboratuvarında aseptik koşullarda yaklaşık 1 gr bağırsak içeriği % 7'lik lize edilmiş at kanı ile zenginleştirilmiş ve Preston selektif supplement (OXOID) ilave edilerek hazırlanmış 10 ml Preston *Campylobacter* Enrichment Broth içerisine inoküle edildi. Tüpler aerobik koşullarda 42 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra birkaç öze dolusu kültür yine % 7'lik lize edilmiş at kanı ile hazırlanmış Preston *Campylobacter* Selektif Agara geçilerek sub-kültürü yapıldı. Karaciğer numunelerinin yüzeyi kızgın spatül ile yakıldıktan sonra öze yardımıyla organın iç kısmından Preston *Campylobacter* Selektif Agar'a ekildi. Petri kutuları CO<sub>2</sub> gaz kiti ile sağlanan mikroaerofilik jar içerisinde 42 °C'de 48 saat inkübe edildiler. Şüpheli koloniler seçilerek saf kültürleri yapıldı. Bu kültürlerden mikroskopta Gram negatif, virgül şeklinde görülenler *Campylobacter* şüphesiyle ayrılarak identifikasyon testleri uygulandı. İdentifikasyonda; katalaz, nitrat redüksiyonu, TSI agarda H<sub>2</sub>S, hippurat hidrolizi, Nalidixic acid ve Cephalotin hassasiyet testleri kullanıldı (23,24).

**DNA ekstraksiyonu:** PZR için DNA ekstrakte etmek amacıyla iki yöntem kullanıldı. Kanlı agarda 42 °C'de 24-48 saat inkübe edilen izolatlarla ait koloniler öze yardımıyla toplandı. Birçok araştırmacı tarafından kullanılan direkt kaynatma metodunda 500 µl distile su içerisinde süspansiyonu yapılan bakteri su banyosunda 10 dakika süreyle kaynatıldıktan sonra soğutulup 8.000 rpm'de 5 dak. santrifüj yapıldıktan sonra elde edilen süpernatant hedef DNA olarak kullanıldı (25).

İkinci yöntem olarak da proteinaz K ile desteklenen fenol ekstraksiyon yöntemi uygulandı. % 5 koyun kanlı agarda 42 °C'de 24-48 saat inkübe edilen izolatlarla ait koloniler öze yardımıyla toplanarak 400 ml PBS içinde yoğun bir şekilde süspanse edildi. Süspansiyon santrifüj edilerek bakteriler pelet halinde toplandı ve üst sıvı atıldı. Pelet, 375 µl STE buffer (100 mM NaCl+50 mM Tris-HCl+1 mM EDTA), 5 µl Proteinaz K (20 mg/ml) ve 20 µl % 10 SDS ile süspanse edildi. Karışım iyice vorteksledi ve 50 °C'de su banyosunda 4 saat inkübe edildi. Her 30 dakikada bir karıştırıldıktan sonra su banyosunda 10 dak kaynatıldı. Karışım soğuduktan sonra üzerine 400 µl fenol ilave edildi ve iyice vorteksledikten sonra 13.000

rpm'de 8 dak. santrifüj edildi. Üst kısım yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine 400 µl kloroform ilave edildi ve 13.000 rpm'de 8 dak. santrifüj edildi. Üst kısımdaki 300 µl sıvı kısım yeni bir tüpe aktarıldı. DNA'nın presipitasyonu amacıyla süspansiyona 0,1 volüm (30 µl) 3M Na-Asetat ve 2,5 volüm (750 µl) saf alkol ilave edilip karıştırıldıktan sonra -20 °C'de bir gece bekletildi ve daha sonra 13.000 rpm'de 20 dak. santrifüj edildi. Üst kısım döküldükten sonra pelet üzerine 500 µl % 70'lik alkol ilave edilerek 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj yapıldı. Alkol döküldükten sonra pelet kurumaya bırakıldı ve daha sonra 100 µl distile su ilave edilerek PZR'da hedef DNA olarak kullanıldı.

**PZR:** PZR işleminde *C. coli* ve *C. jejuni*'nin *ceuE* genine spesifik, *C. jejuni*'de 793 bp uzunluğunda, *C. coli*'de ise 894 bp uzunluğunda gen bölgelerini amplifiye eden primerler kullanıldı. *C. coli* için COL1 (5'- ATG AAA AAA TAT TTA GTT TTT GCA -3') ve COL2 (5'- ATT TTA TTA TTT GTA GCA GCG -3'), *C. jejuni* için JEJ1 (5'- CCT GCT ACG GTG AAA GTT TTG C -3') ve JEJ2 (5'- GAT CTT TTT GTT TTG TGC TGC -3') primerleri kullanıldı (Integrated DNA Technologies Inc.)(10).

PZR işlemi 25 µl toplam hacimde gerçekleştirildi. Karışım 3.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 0.2 mM dNTP karışımı, herbir primerden 1 µM ve 0,5 U Taq DNA polymerase enzimi (Fermentas, Litvanya) ile hazırlandı. 22,5 µl PZR karışımına 2,5 µl DNA ilave edilerek toplam 25 µl hacim elde edildi. PZR işlemi Hybaid marka Touchdown Thermal Cycler kullanılarak her siklusu 94 °C'de 30 sn. denatürasyon, 57 °C'de 30 sn. primer bağlanması, ve 72 °C'de 1 dak. sentez basamaklarından oluşan 30 siklus halinde uygulandı. Yaklaşık 10 µl PZR ürünü % 1,5'lük agaroz jel içerisinde elektroforez yapıldıktan sonra ethidium bromide ile boyanarak ultraviyole transilluminatör'de değerlendirildi. Oluşan bantların molekül ağırlıklarını tespit etmek için 100 bp DNA ladder kullanıldı. DNA ekstraksiyonu ve PZR işlemlerinin sağlıklı bir şekilde yürüdüğünü kontrol etmek için referans *C. coli* ve *C. jejuni* ile negatif kontrol olarak distile su kullanıldı.

## Bulgular

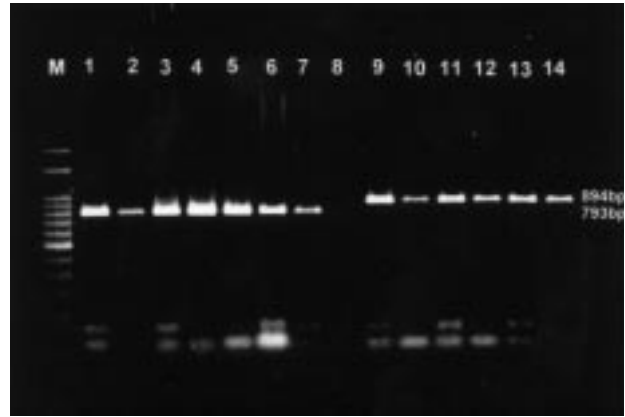
İzolasyon çalışmaları sonucunda incelenen toplam 150 numuneden 25 (% 16,6) *C. coli* ve 32 (% 21,3) *C. jejuni* izole ve identifiye edildi. Bağırsak içeriklerinden 9 (% 6) adet *C. coli*, 21 (% 14) adet *C. jejuni* izole edilirken,

karaciğer numunelerinden 16 (% 10,6) adet *C. coli* ve 11 (% 7,3) adet *C. jejuni* izole ve identifiye edildi (Tablo)

Tablo. İzolatların organlara ve türlere göre dağılımı

	Bağırsak (n: 150)	Karaciğer (n: 150)	Toplam
<i>C. jejuni</i>	21 (% 14)	11 (% 7,3)	32 (% 21,3)
<i>C. coli</i>	9 (% 6)	16 (% 10,6)	25 (% 16,6)
Toplam	30 (% 20)	27 (% 18)	57 (% 38)

*C. coli* ve *C. jejuni* olarak identifiye edilen suşlardan ekstrakte edilen DNA'lar, bu iki türde mevcut olan *ceuE* genine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PZR işlemi sonucunda, COL1 ve COL2 primerleriyle test edilen izolatlardan sadece klasik kültür yöntemiyle *C. coli* olarak identifiye edilenlerde pozitif bantlar (894 bp) oluştu. Bu primerlerle *C. jejuni* olarak identifiye edilen izolatlarda herhangi bir pozitif bant elde edilmedi. Aynı şekilde JEJ1 ve JEJ2 primerleriyle yapılan PZR işleminde de yine sadece klasik kültür yöntemiyle *C. jejuni* olarak identifiye edilen izolatlarda pozitif bantlar (793 bp) elde edildi. İzolatlarla birlikte kullanılan pozitif kontrollerle de kullanılan primerlere uygun uzunlukta pozitif bantlar elde edildi. (Şekil 1)



Şekil 1. Referans *Campylobacter* suşları ve izolatlarla yapılan PZR sonuçlarının % 1,5'lük agarozdaki görüntüsü. **M:** 100 bp Marker, **1:** *C. jejuni* pozitif kontrol, **2-7:** *C. jejuni*, **8:** negatif kontrol, **9:** *C. coli* pozitif kontrol, **10-14:** *C. coli*

DNA ekstraksiyonu için kullanılan iki farklı yöntemden en etkili yöntemin Proteinaz K ile desteklenmiş fenol ekstraksiyon yöntemi olduğu görüldü. Direkt kaynatma yönteminin bazen negatif sonuç vermesi nedeniyle bu

çalışmada kullanılan tüm numunelerden DNA izole etmek amacıyla Proteinaz K yöntemi uygulandı.

## Tartışma

*Campylobacter* ailesi insan ve hayvan sağlığı yönünden büyük önem taşımaktadır. Bu ailedeki türlerden özellikle *C. coli* ve *C. jejuni* daha sıklıkla infeksiyonlara neden olmaktadır (4,5,26). *Campylobacter* ler tarafından meydana getirilen infeksiyonlarla etkili bir şekilde mücadele etmek için etkenin doğru ve hızlı bir şekilde tespit edilmesinin önemi oldukça büyüktür.

*Campylobacter* lerin genel karakterlerinden dolayı az sayıda identifikasyon testinin uygulanabilmesi ve bu testlerin de bazılarının hatalı sonuç vermesi (10-12) gibi dezavantajlarını aşmak amacıyla üzerinde çalışılan alternatif metotların başında PZR tabanlı uygulamalar gelmektedir. Bugüne kadar standart PZR, PZR ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesilerek incelenmesi (RFLP) (27,28) ve PZR ürünlerinin işaretli problar ile muamele edilmesi (29) gibi yöntemlerle *Campylobacter* lerin identifikasyonuna çalışılmıştır. Bu çalışmalarda, RFLP yöntemiyle birçok *Campylobacter* türü ayırt edilebilmesine rağmen *C. coli* ve *C. jejuni*'nin ayırımı yapılamamıştır (27). Bunun yanı sıra RFLP yönteminin standart PZR yöntemine oranla daha zaman alıcı ve ayrıca oldukça pahalı bir yöntem olduğu da bir gerçektir. PZR sonrası PZR ürünlerinin türlere spesifik problarla muamele edildiği araştırmaların birçoğunda *Campylobacter* lerin tür düzeyinde identifikasyonu yapılamamıştır (30). Rashid ve ark. (29), tarafından yapılan çalışmada prob tekniği kullanılarak *Campylobacter* lerin tür düzeyinde identifikasyonu yapılmış olmasına rağmen bu yöntem de Standart PZR yöntemiyle kıyaslandığında uzun zaman ve spesifik problar gibi sarf malzemelere ihtiyaç duymaktadır. Standart PZR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda ise çoğunlukla tek bir PZR işleminin bu iki türü ayırt etmede yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar ilk önce *C. coli* ve *C. jejuni* türlerinin birlikte pozitif sonuç verdiği bir PZR işlemi yaparak bu iki türü diğer *Campylobacter* lerden ayırt etmekte ve daha sonra yaptıkları ikinci bir PZR işlemiyle de *C. coli* ve *C. jejuni*'yi birbirinden ayırt etmektedirler (31).

Bu çalışmada kullanılan PZR yönteminde ise *C. coli* ve *C. jejuni* türleri aynı PZR işleminde, başka ilave bir yöntem ve ilave bir PZR işlemine gerek kalmaksızın

diğer yöntemlere göre oldukça hızlı ve doğru bir şekilde identifiye edildi. Her iki türde de mevcut olan *ceuE* geninden, aralarında yaklaşık 100 bp fark bulunan iki farklı bant oluşturacak şekilde seçilmiş primerler yardımıyla aynı PZR işleminde bu iki türün hem diğer *Campylobacter* lerden ayırt edilmesi hem de tür düzeyinde identifiye edilmesi mümkün olmuştur. Bu primerler kullanılarak etkili bir DNA ekstraksiyon metodu uygulandığı taktirde saf kültürler yerine doğrudan klinik numunelerle de bu tekniğin uygulanması mümkün olacaktır. Böylece izolasyon basamaklarında gerekli olan selektif besiyerleri, mikroaerofilik ortam gaz kitleri gibi maliyetler ve izolasyon zamanından tasarruf edilmiş olunacaktır. Bu çalışmada kültürlerden yapılan DNA ekstraksiyonunda doğrudan kaynatma ve Proteinaz K ile desteklenmiş fenol ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Doğrudan kaynatma yöntemi birçok araştırmacı tarafından kullanılmış ve oldukça kolay bir yöntem olmasına rağmen hatalı negatif sonuçlara neden olduğu bildirilmektedir. *Campylobacter* lerin hücre duvarının kimyasal yapısından dolayı kaynatmayla tamamen ortadan kaldırılamadığı ve kaynatma yöntemiyle etkili bir şekilde DNA ekstraksiyonu yapılamadığı bildirilmiştir (32). Nitekim bu çalışmada kaynatma yöntemiyle gerçekleştirilen DNA ekstraksiyon denemelerinde referans kültürlerden bile negatif sonuçlar elde edildiği için diğer yöntemlere göre daha etkili olan ve *Campylobacter* ler için daha uygun olan Proteinaz K ile desteklenmiş fenol ekstraksiyon yöntemi uygulandı. Bu yöntemde bakterinin hücre duvarının önce enzimatik olarak uzun süreli bir inkübasyonla yıkılması gerçekleştirilmekte ve kaynatmayla bu işlem desteklenmektedir. PZR sonuçları da Proteinaz K yönteminin DNA ekstraksiyonu için en etkili metot olduğunu ortaya koymaktadır.

Elde edilen izolasyon bulguları değerlendirildiğinde *C. jejuni*'nin (% 21.3), *C. coli* (% 16.6)'den daha yüksek oranda izole edildiği görülmektedir. Bu sonuçlar Türkiye'de Yıldız ve Diker (33) tarafından iki farklı tavuk mezbahasında 170 karkastan alınan örneklerde gerçekleştirilen araştırmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar inceledikleri karkas örneklerinden benzer şekilde *C. jejuni* 'nin (% 56) *C. coli*'den (% 41.6) daha yüksek oranda izole edildiğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada elde edilen bulgular rutin laboratuvar çalışmalarında gerekli alt yapı sağlandığı taktirde izolasyonu ve identifikasyonu oldukça zaman alan ve problemlili olan *C. coli* ve *C. jejuni*'nin hızlı ve kesin



identifikasyonunda PZR yönteminin bir alternatif olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan PZR yöntemi ve primerler kullanıldığı taktirde diğer yöntemlere göre daha kısa sürede ve daha az işgücü harcanarak sonuca gidilebildiği görülmektedir.

## Kaynaklar

- Dekeyser, P., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J.P., Sternon, J.: Acute Enteritis due to Related Vibrio: First Positive Stool Cultures. *J. Infect. Dis.* 1972; 125: 390-392
- Allos, B.M., Blaser, M.J.: *Campylobacter jejuni* and the Expanding Spectrum of Related Infections. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20: 1092-1101
- Penner, J.L.: The Genus *Campylobacter*. A Decade of Progress. *Clin. Microbiol. Rev.* 1988; 1: 157-172
- Diker, K.S., Şahal, M., Aydın, N.: Ovine Abortion Associated with *Campylobacter coli*. *Vet. Rec.* 1988; 23,122(4): 87.
- Diker, K.S., İstanbulluoğlu, E.: Ovine Abortion Associated with *Campylobacter jejuni*. *Vet. Rec.* 1986; 15, 118(11): 307.
- Blaser, M.J., Taylor, D.N., Feldman, R.A.: Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Infection in Humans. *Epidemiol Rev.* 1983; 5: 157-176.
- Stern, N.J.: *Campylobacter jejuni*. Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker, Inc., New York, p. 71-109. 1989.
- Skirrow, M.B.: *Campylobacter*. *Lancet*, 1990; 336: 921-923.
- Fernandez, H.: Thermotolerant *Campylobacter* Species Associated with Human Diarrhoea in Latin America. *J. Braz. Assoc. Adv. Sci.* 1992; 44: 39-43.
- Gonzalez, I., Grant, K.A., Richardson, P.T., Park, S.F., Collins, M.D.: Specific Identification of the Enteropathogenes *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by Using a PCR Test Based on the *ceuE* Gene Encoding a Putative Virulence Determinant. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(3): 759-763.
- Nicholson, M.A., Patton, C.M.: Application of Lior Biotyping by Use of Genetically Identified *Campylobacter* Strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 3348-3350.
- Roop, R.M., Smibert, I.R.M., Johnson, J.L., Krieg, N.R.: Differential Characteristics of Catalase-Positive *Campylobacters* Correlated with DNA Homology Groups. *Can. J. Microbiol.* 1984; 30: 938-951.
- Korolik, V., Coloe, P.J., Krishnapillai, V.: A Specific DNA Probe for the Identification of *Campylobacter jejuni*. *J. Gen. Microbiol.* 1988; 134: 521-529.
- Stucki, U., Frey, J., Nicolet, J., Burnens, A.P.: Identification of *Campylobacter jejuni* on the Basis of a Species-Specific Gene That Encodes a Membrane Protein. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 855-859.
- Docherty, L., Adams, M.R., Patel, A.P., McFadden, P.P.: The Magnetic Immuno-Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of *Campylobacter* in Milk and Poultry. *Lett. Appl. Microbiol.* 1996; 22: 288-292.
- Eyers, M., Chapelle, S., Camp, G.V., Goossens, H., Watcher, R.D.: Discrimination among Thermophilic *Campylobacter* Species by Polymerase Chain Reaction Amplification of 23S rRNA Gene Fragments. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 3340-3343.
- Gisendorf, B.A.J., Van Belkum, A., Koeken, A., Stegeman, H., Henkens, M.H.C., Van Der Plas, J., Goossens, H., Niester, H.G.M., Quint, W.G.V.: Development of Species-Specific DNA Probes for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lari* by Polymerase Chain Reaction Fingerprinting. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 1541-1546.
- Tenover, F.C., Carlson, L., Barbagallo, S., Nachamkin, I.: DNA Probe Culture Confirmation Assay for Identification of Thermophilic *Campylobacter* Species. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28: 1284-1287.
- Kirk, R., Rowe, T.: A PCR Assay for the Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Water. *Lett. Appl. Microbiol.* 1994; 19: 301-303.
- Oyfo, B.A., Thoronton, S.A., Burr, D.H., Trust, T.J., Pavlovskis, O.R., Guery, P.: Specific Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by Using Polymerase Chain Reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30: 2613-2619.
- Park, S.F., Richardson, P.T.: Molecular Characterisation of a *Campylobacter jejuni* Lipoprotein with Homology to Periplasmic Siderophore-binding Proteins. *J. Bacteriol.* 1995; 177: 2259-2264.
- Richardson, P.T., Park, S.F.: Enterochelin Acquisition in *Campylobacter coli*: Characterisation of Components of a Dependent Transport System. *Microbiology (Reading)*. 1995; 141: 3181-3191.
- Skirrow, M.B., Benjamin, J.: '1001' *Campylobacters*: Cultural Characteristics of Intestinal *Campylobacters* from Man and Animals. *J. Hyg. Camb.* 1980; 85: 427-442.
- Vandamme, P., Goossens, H.: Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter*. A Review. *Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis.* 1992; 276: 447-472.
- Bernhard, S., Haerter, G., Pelz, K., Manfred, K.: Routine Identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Human Stool Samples. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 179: 227-232.

## Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK (VHAG-1603) tarafından desteklenen projenin bir bölümüdür.

26. Taylor, D.N.: *Campylobacter* Infections in Developing Countries. *Campylobacter jejuni*: Current Status and Future Trends. American Society for Microbiology, Washington, D.C., P. 20-30, 1992.
27. Letie, P.C., Blom, K., Patton, C.M., Nicholson, M.A., Staigerwalt, A.G., Hunter, S.B., Brenner, D.J., Barrett, T.J., Swaminathan, B.: Rapid Identification of *Campylobacter* Species by Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of a PCR-Amplified Fragment of the Gene Coding for 16S rRNA. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(1): 62-67.
28. Marshall, S.M., Melito, P.L., Woodward, D.L., Johnson, W.M., Rodgers, F.G., Mulvey, M.R.: Rapid Identification of *Campylobacter*, *Acrobacter*, and *Helicobacter* Isolates by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the 16S rRNA Gene. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37 (12): 4158-4160.
29. Rashid, S.T.R., Dakuna, I., Louie, H., Ng, D., Vandamme, P., Johnson, W., Chan, V.L.: Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *Arcobacter butzleri*, and *A. butzleri*-Like Species Based on the glyA Gene. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(4): 1488-1494.
30. Romaniuk, P.J., Trust, T.J.: Rapid Identification of *Campylobacter* Species Using Oligonucleotide Probes to 16S Ribosomal RNA. *Mol. Cell. Probes.* 1989; 3: 133-142.
31. Linton, D., Lawson, A.J., Owen, R.J., Stanley, J.: PCR Detection, Identification to Species Level, and Fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Direct from Diarrhoeic Samples. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(10): 2568-2572.
32. Mohran, Z.S., Arthur, R.R., Oyofe, B.A., Peruski, L.F., Wasfy, M.O., Ismail, T.F., Murphy, J.R.: Differentiation of *Campylobacter* Isolates on the Basis of Sensitivity to Boiling in Water as Measured by PCR-Detectable DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64: 363-365.
33. Yıldız, A., Diker, K.S.: *Campylobacter* Contamination in Chicken Carcasses. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 1992; 16: 433-439