

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İÇME SULARINDA *AEROMONAS* VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Bio. Hülya ÖZDEMİR

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ

Tez No:2007-035

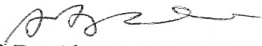
2007-AFYON

KABUL VE ONAY


Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.08.2007


Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ

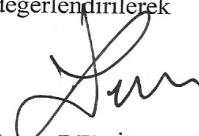
ÜYE


Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE

ÜYE


Yrd.Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ
ÜYE

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans öğrencisi Hülya ÖZDEMİR'in " İçme Sularında *Aeromonas* Varlığının Araştırılması" başlıklı tezi 17.08.2007 günü saat 08:30'da lisansüstü eğitim ve öğretim sınav yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Yavuz DEMİR

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Ders döneminden başlayarak, tez hazırlama döneminde de bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, sabrını ve hoşgörüsünü sonuna kadar gösteren tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ'ye,

Yüksek lisans öğrenimim süresince emeği geçen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri, değerli hocalarım, Doç.Dr. Orhan Cem AKTEPE, Doç.Dr. Mustafa ALTINDIŞ, Doç.Dr. Zafer ÇETİNKAYA'ya ,

Aerokey-II çalışmalarındaki katkılarından dolayı Dr.Hanifi KÖRKOCA'ya, gerek örneklerin toplanmasında gerekse laboratuvar çalışmalarında emeğini, bilgisini ve zamanını benimle paylaşan Dr. Nedim TUNÇ ve Uzm.Dr.Birol ŞAFAK'a,

Hayatımın her aşamasında beni yüreklendiren, ilgi ve desteklerini her daim yanımda bulduğum sevgili aileme,

Saygı ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bio.Hülya ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	II
ÖNSÖZ	III
KISALTMALAR	VIII
TABLolar DİZİNİ	XI
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. Taksonomi.....	4
2.3. <i>Aeromonas</i> cinsi bakterilerin cins düzeyinde tanımı.....	5
2.4. <i>Aeromonas</i> cinsi bakterilerin tür düzeyinde tanımı.....	6
2.5. <i>Aeromonas</i> türleri.....	6
2.5.1. <i>A. media</i>	6
2.5.2. <i>A. veronii</i>	6
2.5.3. <i>A. schubertii</i>	7
2.5.4. <i>A. eucrenophila</i>	7
2.5.5. <i>A. jandaei</i>	7
2.5.6. <i>A. trota</i>	7
2.5.7. <i>A. allosaccharophila</i>	8
2.5.8. <i>A. hydrophila</i>	8
2.5.9. <i>A. caviae</i> ve <i>A. sobria</i>	8
2.5.10. <i>A. salmonicida</i>	8
2.6. <i>Aeromonas</i> cinsi bakterilerin insan sağlığı açısından önemleri	8
2.7. Kültür ve Biyokimyasal Özellikler.....	9
2.7.1. <i>Aeromonas</i> cinsi bakterilerin virulans etmenleri.....	9
2.7.1.1. Alfa (α) hemolizin.....	10
2.7.1.2. Beta (β) hemolizin.....	11
2.7.1.3. Sitotoksik enterotoksin.....	11

2.7.1.4. Pili.....	11
2.7.1.5. S tabakaları.....	12
2.7.1.6. Lipopolisakkarit(LPS).....	12
2.7.1.7. Dış Membran Proteinleri (DMP) ve Kamçı.....	12
2.7.1.8. Enzimler.....	12
2.7.1.9. İnvazinler.....	12
2.7.1.10. Serum Direnci.....	13
2.7.1.11. Plasmidler.....	13
2.7.1.12. Adherens.....	13
2.7.1.13. Sideroforlar.....	13
2.7. <i>Aeromonas</i> türünün potansiyel kaynakları.....	13
2.8.1. Çevresel kaynaklar.....	13
2.8.1.1. Su Kaynakları.....	13
2.8.1.2. Kanalizasyonlar.....	14
2.8.2. Gıdalar.....	14
2.8.2.1. Deniz ürünleri.....	15
2.8.2.2. Etler.....	15
2.8.2.3. Çiğ süt.....	15
2.8.2.4. İnsanlar.....	16
2.8. <i>Aeromonas</i> türlerinin insanlarda neden olduğu hastalıklar.....	16
2.9.1. Ekstra intestinal enfeksiyonlar.....	16
2.9.1.1. Su ile temas sonrası gelişen enfeksiyonlar.....	17
2.9.1.2. Kanserli hastalar.....	17
2.9.1.3. Hepatobiliyer bozukluğu olan hastalar.....	17
2.9.1.4. Diğer <i>Aeromonas</i> Enfeksiyonları.....	18
2.9.2. Gastrointestinal Enfeksiyonlar.....	18
2.10. <i>Aeromonas</i> cinsi bakterilerin antimikrobiyallere duyarlılıkları.....	20
2.10.1. <i>Aeromonas</i> türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri.....	21
3. MATERYAL VE METOD.....	22
3.1. Su örneklerinin alınması ve incelenmesi.....	22
3.1.1. Örnek alımı.....	22

3.1.2. İzolatların identifikasyonu.....	22
3.1.2.1. Kültürel Özellikler.....	23
3.1.2.2. Mikroskopik Özellikler.....	23
3.1.2.3. Biyokimyasal Özellikler.....	23
3.2. İdentifikasyonda Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar.....	24
3.2.1. Ampisilinli Kanlı Agar.....	24
3.2.2. Mueller-Hinton Besiyeri.....	24
3.3. BD-Phoneix Sistem.....	25
3.4. Aerokey-II Yöntemi.....	26
3.4.1. Oksidaz Testi.....	26
3.4.2. Katalaz Testi.....	27
3.4.3. Hareket.....	27
3.4.4. Karbonhidratların Fermentasyonu.....	27
3.4.5. %0 ve %6 tuzlu Nutrient Besiyerleri.....	27
3.4.6. DNA'az Test Agar.....	28
3.4.7. İndol Oluşumunu Göstermek İçin Kullanılan Çözelti.....	28
3.4.8. Tiyosülfattan H ₂ S Oluşumunu Göstermek İçin Kullanılan Çözelti.....	28
3.4.9. Mannitol.....	29
3.4.10. m- İnositol Ksiloz Agar.....	29
3.4.11. Üreaz.....	29
3.4.12. Eskülin Agar.....	30
3.4.13. Glukozdan Asetoin Üretimi(Voges-Proskauer).....	30
3.4.14. MR/VP (Clark-Lubs Besiyeri).....	30
3.4.15. %1 Peptonlu Suda İndol Üretimi.....	31
3.4.16. TSI (3 Şekerli Besiyeri).....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	45
KAYNAKLAR	46

KISALTMALAR

ARARR	:	Arginin-Arginin- AMC
GUGAH	:	Glutaril-Glisin-Arginin-AMC
LLEUH	:	L-Lösin-AMC
LPYR	:	L-Pyroglutamic Acid- AMC
ACT	:	Acetate
CLST	:	Colistin
MLO	:	Malonate
NAG	:	4MU-N-Acetyl-BD-Glucosaminide
BDGLU	:	PNP-BD-Glucoside
BGEN	:	Beta-Gentibiose
DGAL	:	D-Galactose
DSBT	:	Sorbitol
LARA	:	L-Arabinose
MTU	:	Maltulose
ORN	:	Ornithine
GLPRB	:	Glycine-Proline-AMC
LARGH	:	L-Arginine-AMC
LPHET	:	L-Phenylalanine-AMC
LTYR	:	L-Triptophan-AMC
ADO	:	Adenitol
DMNT	:	D-Mannitol
PXB	:	Polymyxin-B
LGGH	:	Gamma-L-Glutamyl-NA
BPHO	:	BIS(PNP) Phosphate
DEX	:	Dextrose
DGUA	:	D-Gluconic-Acid
DSUC	:	Sucrose
NGA	:	N-Acetyl-Galactosamine
URE	:	Urea
GLYB	:	Glycine-AMC

LGTA	:	L-Glutamic-Acid
LPROB	:	L-Proline-AMC
LYALD	:	Lysine-Alanina
CIT	:	Citrate
KGA	:	Alpha-Ketoglutaric-Acid
TIG	:	Tiglic-Acid
LPROT	:	L-Proline-NA
BALL	:	Beta-Allose
DFRU	:	D-Fructose
DMLB	:	D-Melibiose
GRA	:	Galacturonic-Acid
MBGU	:	Methyl-B-Glucoside
NGU	:	N-Acetyl-Glucosamine
ESC	:	Esculin
TSBAB	:	Trypticase Soy Blood Agar
İPM	:	İmipenem
CAZ	:	Seftazidim
CTX	:	Sefotaksim
CRO	:	Seftriakson
CEC	:	Sefaklor
AMC	:	Amoksisilin/Klavulanat
TİM	:	Tikarsilin/Klavulanat
CXM	:	Sefuroksim aksetil
TZP	:	Piperasilin-Tazobaktam
CİP	:	Siprofloksasin
AK	:	Amikasin
S	:	Duyarlı
R	:	Dirençli
I	:	Orta Duyarlı
V	:	Değişken
+(*)	:	Çok Zayıf

TABLULAR DİZİNİ

Tablo-1: Yeni tanımlanan <i>Aeromonas</i> türlerin fenotipik grupları	5
Tablo-2: Örneklerin alındığı istasyonlar	23
Tablo-3: Elde edilen kolonilerin ön tanı testleri	32
Tablo-4; BD phoneix sisteminin <i>Aeromonas spp.</i> paneli identifikasyon kriterleri	33
Tablo-5: İdentifiye edilen <i>Aeromonas</i> türlerinin direnç ve duyarlılıkları	34
Tablo-6:Aerokey II yöntemi ile identifiye edilen suşlar	36
Tablo-7: İki farklı çalışmada izole edilen <i>Aeromonas</i> suşlarının yüzde oranları	37
Tablo-8:Türkiye’de görülen gastroenterit vakalarının yıllara göre dağılımı	41

ÖZET

Bu araştırmada, Afyonkarahisar ilindeki toplam 70 su örneğinden izole edilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığı, sıklığı ve antibiyotik direnç paternleri incelendi. İncelenen 70 su örneğinin 16'sı (%22,9) kaynak suyu, 54'ü (%77,1) şehir şebeke suyu idi. Etkenlerin izolasyonunda seçici besiyeri olarak Ampisilinli kanlı agar kullanıldı. Elde edilen izolatların tanımlanması Aerokey-II yöntemi ve Becton Dickinson(BD)-Phoneix-100 otomatize sistemi ile 2 farklı şekilde yapıldı. *Aeromonas* izolatlarının direnç paternleri Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) 2006'ya göre değerlendirildi.

Su örneklerinin 6'sında (%8,6) *Aeromonas* türü saptandı. Aerokey-II yöntemine göre izolatların dağılımı; 3'ü (%50,0) *A.hydrophila*, 2'si (%33,4) *A.caviae* ve 1'i (%16,6) *a.veronii biovar sobria* şeklinde olup, BD-Phoneix Sistemi verilerine göre izolatların dağılımı; 1'i (%14,3) *A.hydrophila*, 3'ü (%42,9) *A.caviae*, 2'si (%28,6) *A.sobria* ve 1'i (%14,3) *A.veronii* şeklindeydi.

Sonuç olarak, *Aeromonas* izolatlarının elde edildiği örneklerin önemli bir bölümünün kaynak suları olduğu düşünülürse bu durumun toplum sağlığı açısından büyük bir risk teşkil edebileceği kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: İçme suyu, Gastroenterit, *Aeromonas*, Aerokey-II.

SUMMARY

In this study, the presence, frequency and antibiotic resistance patterns of *Aeromonas* strains isolated from 70 water samples were examined in Afyonkarahisar province. The sixteen examined of 70 samples (22,9%) were spring water and the fifty-four examined ones (77.14%) were tap water. As a selective medium, blood agar with Ampicillin was used for isolation. The identification of obtained isolates were done by two different ways; automatise system, Becton Dickinson (BD) Phoneix-100 and Aerokey-II method. *Aeromonas* isolates resistance patterns were evaluated according to Clinical and Laboratory Standarts Institue (CLSI) criterias, 2006.

In the six (8.57%) of the samples, *Aeromonas* strains were detected. According to Aerokey II method, the distribution of were as; 3 of (50%) *A. hydrophila*, 2 of (33.4%) *A. caviae* and one (16.6%) *A. veronii* biovar *sobria*. On the other hand, according to BD-Phoneix System data, the isolates distribution: one (14.28%) was *A. hydrophila*, 3 of (42.85%) were *A. caviae*, 2 of (28.57%) were *A. sobria* and one (14.28%) was *A. veronii*.

In conclusion, considering the most of obtained *Aeromonas* isolates from spring water, we convince that this situation is a great risk in terms of public health.

Key Words: Water, Gastroenteritis, *Aeromonas*, Aerokey-II

1. GİRİŞ

Aeromonas türleri tatlı su ekosistemlerinde uygun koşullar altında çoğalabilen ve bu ekosistemin yerli florasına ait bir bakteri olarak bilinirler. Yüzey sularında, çamurlarda ve kanalizasyonlarda geniş çapta dağılmış durumda bulunurlar. Ayrıca *Aeromonas* türleri poikiloterm (vücut sıcaklığı çevre ısısına göre değişen) ve homeoterm (sabit vücut sıcaklığına sahip) hayvanların normal florasında da yer aldıkları bildirilmiştir. Ayrıca balıkların barsak floraları ve deniz kabukluları, özellikle de istiridyeler *Aeromonas hydrophila*'nın en iyi bilinen gıda kaynaklarıdır. Unutulmaması gereken önemli bir konu da su ile temas eden her gıdanın *Aeromonas* kökenleri ile kontamine olabilme ihtimalidir(1,2).

Aeromonas'lar, *Vibrionaceae* ailesinden 0,3-1,0µm eninde, 1,0-4,4µm boylarında Gram negatif çomaklar olup tek tek veya kısa zincirler halinde bulunabilirler. Genellikle kamçı ile hareket ederler. Oksidaz ve katalaz pozitifler. Nitratları nitritlere indirgerler. En uygun üreme ısıları, 22-28 °C arasındadır. Mezofil olanlar 10-40 °C arasında üreyebilirken, psikrofil olanların ancak 37 °C'nin altında üreyebildikleri bilinmektedir. Amilaz, DNA'az, esteraz, peptidaz, arilamidaz gibi hidrolitik enzimler yaptıkları da bildirilmektedir(3).

Aeromonas cinsi üyelerinden özellikle *A. hydrophila* türünün insan enfeksiyonlarında ki rolü son yıllarda çok daha iyi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar *A. hydrophila*'nın insanlarda fırsatçı bir patojen olduğunu destekler mahiyettedir(4).

A. hydrophila ve *A. caviae* izolatlarında ki enterotoksik özelliklerin açığa çıkması ve *A. hydrophila*'nın özellikle çocuklardaki gastroenterit ile ilişkisinin gözlenmesi bu organizmanın potansiyel bir barsak patojeni olarak değerlendirilmesinde önemli rol oynamıştır. *A. hydrophila* enterotoksin, sitotoksin, α-hemolizin, β-hemolizin, fimbriya veya adezinler ve kapsül oluşturma yeteneği gibi biyolojik olarak aktif virulans faktörlerine sahiptir(1,5-8).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Aeromonas cinsi bakterilerin ilk ayrımı genellikle Sanarelli (1891)'ye atfedilse de bu cinsi ilk ayıran büyük olasılıkla Zimmermann (1890)'dır. Zimmermann, Chemnitz'de içme suyundan ayırdığı bu bakterilere "*Bacillus punctatus*" adını vermiştir. Sanarelli ise, "*Bacillus hydrophilus fuscus*" adını verdiği bu bakterinin soğuk ve sıcak kanlı hayvanlara aşılmasıyla septisemi ve hastalık oluşturduğunu bildirmiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu bakteriye "*Bacterium punctatum*", "*Achromobacter punctatu*" ve "*Pseudomonas punctat*" adları verilmiş ve *Pseudomonas* cinsi içerisinde değerlendirilmiştir. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin ilk baskısında bu bakteri, "*Proteus hydrophiliu*" adıyla yer almıştır. Aynı kitabın altıncı baskısında, *Proteus* cinsinden çıkartılmış ve *Pseudomonas* cinsi içerisinde bahsedilmiştir. İlk kez 1957 yılındaki Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin yedinci baskısında, Kluvyer ve Van Niel tarafından *Aeromonas* cinsi olarak sınıflandırılmışlar ve *Aeromonas* olarak yer almışlardır(9-12).

2.2. Taksonomi

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1984 baskısına göre *Aeromonas* cinsi için 4 türden bahsedilmektedir ve bunların: *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. salmonicida* olduğu bildirilmektedir(12).

Bu ayrımın fenotipik özelliklere göre gerçekleştirilmiş olduğu ve birden fazla genotürü (veya DNA homoloji grubunu) kapsadığı bildirilmiştir. Sonraki yıllarda moleküler tekniklerin gelişmesi ve daha yaygın olarak kullanılmasıyla *Aeromonas* cinsi 14 homoloji grubuna ayrılmıştır. Ancak bu genotürlerin tümünü fenotip özelliklerine göre tanımlamanın mümkün olmadığı bildirilmiştir(13-15).

Fenotipik özelliklere göre oluşturulan iki temel grubun psikrofil ve mezofilik grup olduğu bildirilmektedir.

Psikrofil grup: Hareketsizdir, 37 °C'de üremezler. Bu gruba giren türlerin klinik mikrobiyolojide önemleri yoktur(16).

Mezofilik grup (*A. hydrophila*): Hareketlidirler ve 37 °C'de ürerler. 11 DNA hibridizasyon grubu vardır. Bunlarda birkaç alt tür içerir. Temel olarak 3 grup vardır. Bunlar *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria*'dır(16).

Tablo-1: Yeni tanımlanan *Aeromonas* türlerin fenotipik grupları(17)

Genotipik grup (genotür)	Fenotipik grup	Tür ismi
1		<i>A. hydrophila</i>
2	<i>A. hydrophila</i>	isimsiz
3		<i>A.salmonicida</i>
4	<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i> (<i>A. punctata</i> *)
5A		<i>A. media</i>
5B		<i>A.media</i>
6		<i>A. eucrenophila</i>
7	<i>A. sobria</i>	<i>A. sobria</i>
8		<i>A. veronii</i>
9		<i>A. jandaei</i>
10/8		<i>A. veronii</i> (+)
11		<i>A.veronii- like</i>
12		<i>A. schubertii</i>

**A. punctata*, *A.caviae* ile aynı idenfikasyon özellikleri gösterir. (+), DNA grup 8 ve 10 özdeş gruplardır.

2.3. *Aeromonas* cinsi bakterilerin cins düzeyinde tanımı

Aeromonas cinsi bakteriler *Enterobacteriaceae*'den pozitif oksidaz reaksiyonu ile ayrılır. Glukoz ve diğer birçok karbonhidratı fermente ederler. Çoğu suşlar glukozdan gaz yaparlar. Glukozu oksidasyonla değil de fermantasyonla metabolize etmesiyle *Pseudomonas* cinsi bakterilerden kolaylıkla ayrılırlar(18). *Vibrio* cinsinden ayırımında ise, vibriyostatik bir ajan olan O/129 antiserumuna dirençli oluşları,

ornitin dekarboksilaz (*A. veronii* hariç) negatif oluşları ve %0-6 oranında NaCl içeren nutrient broth'da üreme özelliklerinden yararlanılır(19,20).

2.4. *Aeromonas* cinsi bakterilerin tür düzeyinde tanımı

Aeromonas cinsi bakteriler, yirmiden fazla enzim üreterek, birçok şekeri parçalayabilmektedirler ve biyokimyasal özelliklerine göre türlerine ayrılabilirler. Hareketli olan *Aeromonas* cinsi bakterilerin en uygun üreme ısıları 28 °C'dir ve biyokimyasal reaksiyonlarının ısıya bağımlı olarak gerçekleşmesi nedeni ile fermentatif özelliklerinin 28°C'de araştırılması önerilmiştir(16).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin(12) 1984 baskısında yer aldığı şekilde 1974 yılında Popoff ve Veron'un sınıflandırmasına göre *Aeromonas* cinsi bakteriler, göreceli olarak az sayıda deney (glikozdan gaz yapımı, Voges-Proskauer, arabinoz, salisin, eskulin hidrolizi, lizin dekarboksilaz, arginin dihidrolaz, vb.) ile *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* olarak ayrılabilmişlerdir.

1991 yılında Carnahan ve ark. tarafından uygulanan Aerokey II yöntemiyle 7 *Aeromonas* türü tanımlanmıştır(21).

Ancak daha sonra yapılan çalışmalar, DNA homolojisine göre; *Aeromonas* cinsinde 14 genotür olduğunu ve bunların hepsinin fenotip özelliklerine göre birbirlerinden ayıramadığını ortaya koymuştur. Bugüne kadar tanımlanan 14 DNA homoloji grubunun 11'i klinik örneklerden ayrılmış ve bunların %85'ini de 1.,4. ve 8. DNA homoloji gruplarının oluşturduğu gösterilmiştir(22).

2.5. *Aeromonas* türleri

2.5.1. *A. media*

1983 yılında Allen ve ark. tarafından tanımlanmıştır. İnsanda hastalık yaptığı saptanamayan bu türün mezofil oluşu ve glikozdan gaz oluşturmaması ayırtedici özellikleridir. Feno türü DNA homoloji grubu 5B'de yer almaktadır. Geno türü olarak ise, DNA homoloji grupları 5A ve 5B'de yer aldığı bildirilmiştir(23).

2.5.2. *A. veronii*

1987 yılında Hickman-Brenner ve ark. tarafından, klinik örneklerden ayrılarak tanımlanmıştır. Ornitin dekarboksilaz pozitif oluşu ayırt edici özelliği olarak bildirilmiştir. Feno türleri DNA homoloji grupları 10'da [DNA homoloji grubu 11 *A. veronii* benzeri (*veronii-like*) olarak adlandırılmıştır] yer alırken, geno türleri 8. ve 11.gruplarda yer almaktadır. Fenotip özelliklerinden dolayı homoloji grubu 10'da yer alan *A. veronii* (ornitin dekarboksilaz olumlu) olarak ayrılmış, ancak her iki homoloji grubu ile özdeş olduğu bildirilmiştir(24).

2.5.3. *A. schubertii*

1988 yılında Hickman-Brenner ve ark. tarafından klinik örneklerden izole edilmiştir. Mannitol negatif oluşu ayırt edici özelliğidir. Feno ve geno türleri DNA homoloji grubu 12'de yer almaktadır(15).

2.5.4. *A. eucrenophila*

1988 yılında Shubert ve Hegazi tarafından tanımlanmıştır. Çevre örneklerinden bulunan bu psikrofil türün, insanda hastalık oluşturmadığı bildirilmiştir. Feno ve geno türleri DNA homoloji grubu 6'da yer almaktadır(25).

2.5.5. *A. jandaei*

1991 yılında Carnahan ve ark. tarafından klinik örneklerden izole edilmiştir. Daha önce DNA homoloji grubu 9'da yer alan bir geno tür olan bu yeni tür, sukroz, eskülin ve sellebiyoz negatif oluşuyla diğer *Aeromonas* türlerinden ayrılmaktadır (26).

2.5.6. *A. trota*

1991 yılında Carnahan ve ark.tarafından Güney ve Güneydoğu Asya 'daki dışkı örneklerinden identifiye edilmiştir. Eskülin, arabinoz negatif ve Ampisiline duyarlı oluşu ile ayrılmaktadır. Başlangıçta, DNA homoloji grubu 13'de değerlendirilen bu tür, daha sonra, 14. grupta sınıflandırılmıştır. Bu türe ait bazı

suşların, *Vibrio cholerae* O/139 antijeni ile immünolojik çapraz reaksiyon verdikleri bildirilmiştir(27,28).

2.5.7. *A. allosaccharophila*

Martinez-Murcia tarafından 1992 yılında tanımlanmış bir mezofil tür olup bu tür hakkında fazla bir bilgiye ulaşılamamıştır(29).

2.5.8. *A. hydrophila*

ABD’de 1982 yılında istiridyelerin çiğ olarak tüketilmesi sonucu oluşan salgın sonrası tanımlanmıştır(30). Türün genotipik incelemelerinde 3 hibridizasyon grubunun bulunduğu bildirilmiştir(12).

2.5.9. *A. caviae* ve *A. sobria*

A. caviae ve *A. sobria* suşları için 2 hibridizasyon grubu bulunmuştur(12). Hibridizasyon grupları birbirlerinden biyokimyasal testlerle ayırt edilememektedir. Bu grupların tanımlanmasında fenotipik testlerden ve ilave moleküler metodlardan yararlanılması tavsiye edilmektedir. Bunun dışında PCR yöntemi ile tanımlama çalışmaları da yapılmakla beraber, henüz standart bir yöntem literatürde rastlanamamıştır.

2.5.10. *A. salmonicida*

A. salmonicida’ya 3 alt tür bulunduğu bildirilmiştir. Bunlar; *A. salmonicida subps.salmonicida*, *A. salmonicida subps.achromogenes* ve *A. salmonicida subps.masoucida*’dır(12).

2.6. *Aeromonas* cinsi bakterilerin insan sağlığı açısından önemleri

Bu bakteriler şebeke sularından izole edilmekte olup bazı çalışmalarda içme sularındaki yoğunlukları ile *Aeromonas*’lara bağlı gastroenteritler arasında paralellik saptanmış olması, sulardan ayrılan kökenlerinde sitotoksin, enterotoksin, hemolizin gibi virulans özelliklerinin gösterilmesi, fizyolojik benzerliklerin saptanması, bazı

çalışmalarda *Aeromonas* gastroenteritlerinde artılmamış içme suyu kullanma ve bu sularda yuzme oykusunun bulunması ile desteklenmektedir.

2.7. Kiltur ve Biyokimyasal Ozellikler

*Aeromonas*lar 0,3-1,0µm eninde, 1,0-4,4µm boyunda Gram negatif duz basillerdir. Bazen kokobasiller yada uzun flamanlı basiller halinde gorulebilirler. *A. salmonicida* hariç hepsi hareketlidir. Hareketli suşların hepsinde tek bir kutupsal kirpik vardır. Kirpikleri ile çok hareketli olduklarından jeloz kıvamlı hazırlanan katı besiyerlerinde, besiyerinin yuzeyine yayılım gosterirler.

Katalaz ve oksidaz pozitifdir. *Enterobacteriaceae* ailesinden pozitif oksidaz reaksiyonu ile ayrılırlar. Glukoz ve diğer birçok karbonhidratları fermente ederler. Çoğu suşlar glukozdan gaz oluştururlar. Glukozu oksidasyonla değil fermentasyonla metabolize ederler. Bu ozelligiyle *Pseudomonas*'lardan ayrılırlar. *Aeromonas* turleri birbirlerinden arjinin hidrolaz, ornitin ve lizin dekarboksilaz; Voges-Proskauer reaksiyonu, çeşitli karbonhidratlardan asit oluşturma, eskulin hidrolizi araştırılarak ayırt edilebilir. (31)

2.7.1. *Aeromonas* Cinsi Bakterilerin Virulans Etmenleri

A. hydrophila'nın son yıllarda artan oneminin sebebi içerdiği çeşitli virulans faktorlerinin tanımlanması ve bu virulans faktorlerinin enteropatojeniteye neden olduğunun anlaşılmasıdır. *A. hydrophila*'nın sahip olduğu virulans faktorleri hemolizinler, enterotoksinler ve birçok sitotoksik proteinlerdir(7). *A. hydrophila*'nın bu virulans faktorlerinden hangisinin gastroenterite neden olduğu bilinmemektedir. Ancak gunumuzde *A. hydrophila*'nın kiltur supernatanlarının gastroenterite neden olduğu ve bunda birçok virulans faktorunun birlikte rol oynadıkları kabul edilmektedir(1). Stelma ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada hemolizin uretiminin *A. hydrophila*'nın enteropatojenitesi ile direkt ilişkili olduğu gosterilmiştir. *A. hydrophila*'nın hemolitik suşlarının enterotoksin uretmedikleri farklı çalışmalarda bildirilmiştir(32).

İçme sularında ki birçok mezofilik *Aeromonas* izolatında toksijenik faktörler çalışmalarda gösterilmiştir. Millership, Barer ve Tabaqchali (1986), klorlanmış ve klorlanmamış içme sularından izole ettikleri *Aeromonas* suşlarının (ilk başta *A. hydrophila*) %28'inde sitotoksisite göstermişlerdir. İstisna olarak hiçbir *A. caviae* suşunda sitotoksisite gösterilememiştir(33). Holmes, Niccolls ve Sartory (1996), izole ettikleri *Aeromonas* suşlarının %20'sinin enterotoksisiteye sahip olduklarını ifade ederek ve fenotipik karakter özelliklerini göstermişlerdir. Bu izolatların %75'i *A. hydrophila*, %14'ü *A. sobria*, %9'u *A. caviae* ve geri kalanı *A. schubertii*'dir(34). Burke ve ark.(1984), Avustralya'da klorlanmamış içme sularından %61 enterotoksijenik, %64 hemolizin üreten *Aeromonas* suşları bulmuşlardır(35). Benzer şekilde, Kroveck ve ark.(1992), İsveç'te klorlanmış ve klorlanmamış içme sularında, hemolitik %100 *A. hydrophila* ve %70 *A. sobria* bulmuşlar ancak bu suşların %30'dan daha az oranlarda enterotoksijenik olduğunu göstermişlerdir(36). Kirov ve ark.(1994), sulardan elde ettikleri izolatlarda, iki veya daha fazla virulans faktörü içeren suşların %53,6'sının *A. hydrophila* hibridizasyon grup I (HG1) ve %55'inin HG3 olduğunu bildirmişlerdir(37).

1998 yılında Norveç'te yapılan bir çalışmada su ve gıdalarda *Aeromonas spp.*'nin virulans faktörleri araştırılmıştır. Su ve gıdalardan elde edilen 31 *Aeromonas spp.* sınıflandırılmış ve bu türler sitotoksinler (doku kültürleri, PCR), enterotoksinler (PCR), ve invazyon yeteneklerini (Caco-2 cells) içeren olası virulans faktörleri açısından değerlendirilmiştir ve 5 farklı tür kaydedilmiştir. Bu türlerin 9'u *A. caviae*, 15'i *A. hydrophila*, 3'ü *A. schubertii*, 3'ü *A. trola* ve 1'i *A. veronii biovar veronii* olarak saptanmıştır(38).

Aeromonas toksinleri ekzo ve endo-toksinler olarak sınıflandırılabilir. Sitotoksinler ve hemolitik aktiviteyi de içeren enterotoksinler patojenitede oldukça önemlidir. *Aeromonas* türlerinin proteaz, amilaz, kitinaz, lipaz, nükleaz gibi karakteristik difüzyon faktörleri ile diğer ekstrasellüler maddeleri de üretebildikleri bildirilmiştir(39).

2.7.1.1. Alfa(α) hemolizin

Bakteri tarafından 22 °C'de üretilir ve eritrositlerin tam olmayan lizisine neden olur. Isıya ve proteoliz enzimlerine oldukça dayanıksızdır. Değişik hücre tiplerinde geriye dönüşlü sitotoksik değişikliklere yol açmaktadır(9,40).

2.7.1.2. Beta (β) hemolizin

Bu toksin, 37 °C'de üreyen kültürlerde en yüksek oranda üretilirler ve farklı türler eritrositlerin lizisine neden olurlar(40). Birçok hücre serisine sitotoksik etkili olan beta hemolizin, alfa hemolizinden ve enterotoksinden farklıdır. Aerolizin ve Asoa toksin olarak adlandırılmaktadır. Kuvvetli beta hemoliz ile, enterotoksin arasında bir bağıntı olduğu yönündeki bulgulara sahip bazı çalışmalardan dolayı, beta hemolizinin bir enterotoksin olabileceği düşünülmüştür(41,42).

2.7.1.3. Sitotoksik enterotoksin

Bu protein birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve 1984 yılında Chakraborty ve ark. tarafından klonlanmıştır. Bu araştırmacılar Hindistan'daki ishaller hastalardan alınan iki *A. hydrophila* suşunun enterotoksijenik aktivite gibi sitotoksik ve hemolitik aktiviteye de sahip olduklarını bulmuşlardır(1). Tavşan ve sığanlarda, mukoza hasarına yol açmadan barsakta, sıvı birikimine yol açan ısıya dayanıksız hücre dışı bir protein olarak tanımlanmıştır. Bu toksinin etkinliği kolera toksinine (KT) ve *Escherichia coli*'nin (*E. coli*) ısıya dayanıksız toksini (Labil toksin-LT)'ye benzer olmakla beraber, oluşturduğu immün yanıt açısından bunlara benzemediği saptanmıştır(43,44). Bundan başka KT antiserumu ile çapraz reaksiyon veren bir başka enterotoksin de (KTC) saptanmıştır. Bu toksin 37 °C'de kazamino asit-maya özlü sıvı besiyerlerinde çalkalanarak üretilen *Aeromonas* suşları tarafından üretilmektedir. KT ile çapraz reaksiyon veren toksin, ELISA yöntemi ile saptanabilmektedir(45-51).

2.7.1.4. Pili

Hem klinik hem çevre kökenlerinde elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda düz ve kıvrımlı pili olmak üzere iki tip pili olduğu saptanmıştır. Düz piliye sahip kökenler tüm üreme koşullarında yapılmaktadır ve bunların

hemaglütinasyon yetenekleri bulunmaktadır. Kıvrımlı pili ise daha küçüktür ve en fazla 22 °C'de sınırlı demir iyonu içeren besiyerlerinde yapılmaktadır(11).

2.7.1.5. S Tabakaları

A. salmonicida'da başlangıçta hücre duvarının dış kısmında yer alan ve A tabakası olarak adlandırılan ve yitirildiğinde LD₅₀'de 1000-10.000 kat artışa sebep olan bir tabaka tanımlanmıştır. Daha sonra bunun, parakristal yapıda tipik bir S tabakası olduğu anlaşılmıştır. Sonraki çalışmalarda değişik insan ve hayvan infeksiyonlarından ayrılan *A. hydrophila* ve *A. veronii* biyotip *A. sobria*'da S tabakası saptanmıştır. Ancak, S tabakasının, patogenezindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır (47,48,52).

2.7.1.6. Lipopolisakkarit (LPS)

Değişik heksoz ve pentozların varlığına veya yokluğuna göre *Aeromonas*'larda farklı kemotipler tanımlanmıştır. LPS endotoksik özellikte olup hayvan deneylerinde, hastalık patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir(13).

2.7.1.7. Dış Membran Proteinleri (DMP) ve kamçı

Aeromonas kökenlerinin DMP ve kamçıları hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. *A. hydrophila*'da DMP'ler farklı iken *A. salmonicida* kökenleri arasında benzerlik göstermektedir(51).

2.7.1.8. Enzimler

Aeromonas türleri 5 veya 6 adet değişik proteaz enzimi salgılamaktadırlar. Bunlardan bazıları ısıya dayanıklı (EDTA ile etkisizleşen); bazıları ise ısıya dayanıksızdır. Bunlardan başka amilaz, kitinaz gibi enzimleri de bulunmaktadır(51).

2.7.1.9. İnvazinler

Aeromonas türlerine bağlı bazı gastrointestinal hastalıkların invaziv mekanizmalarla oluştuğu düşünülse de, bu varsayımı destekleyen deney verileri henüz oldukça azdır. Ancak *Aeromonas* kökenlerinin özellikle *A. sobria* başta olmak

üzere insan epitelial hücreleri-2 (Hep2) hücrelerine invaze oldukları gösterilmiştir(51).

2.7.1.10. Serum Direnci

Gerek psikrofil gerek mezofil *Aeromonas* kökenlerinin birçoğu havuzlanmış insan, tavşan ve balık serumunda kompleman aracılığı ile lizise karşı dirençlidir. Duyarlı kökenler, komplemanı hem klasik hem de alternatif yoldan aktive edebilmektedirler(51).

2.7.1.11. Plasmidler

A. hydrophila, *A. sobria* ve *A. salmonicida* kökenlerinin %20-100 arasında bir veya birden fazla ekstrakromozom elemanları taşıdıkları gösterilmiştir. Bazı kökenlerin aynı zamanda 9 tane plasmid içerebildikleri saptanmıştır. *Aeromonas* plasmidlerinin çoğu direnç(R) plasmidleridir(52).

2.7.1.12. Adherens

Aeromonas kökenlerinin, eritrositler, yanak epitel hücreleri gibi hücrelere fimbriya harici bazı hücre yüzeyi proteinleri ile bağlandıkları gösterilmiştir(53).

2.7.1.13. Sideroforlar

Sideroforlar demir iyonlarını büyük bir afinite ile bağlayan bileşiklerdir ve infeksiyonların gelişiminde rol oynadıkları kabul edilmektedir. *Aeromonas* türlerinin değişik tiplerde sideroforlar yaptıkları bildirilmiştir(53).

2.8. Aeromonas Türünün Potansiyel Kaynakları

2.8.1. Çevresel Kaynaklar

2.8.1.1. Su Kaynakları

A. hydrophila tatlı su ekosistemlerinin yerli florasına ait bir bakteridir. Bu mikroorganizma ayrıca, kanalizasyonlar, kirli deniz suları, klorlanmamış içme suları ve nehirler gibi diğer su kaynaklarında da bulunmaktadır(54,55).

*Aeromonas*lar hemen hemen her tür su kaynaklarında bulduklarından ve klordan etkilenmediklerinden klorlanmış ve klorlanmamış içme sularında da bulunurlar. Bir çok çalışmada klorlanmış şehir sularında *E.coli*'ye rastlanmazken *Aeromonas* türlerine rastlanmıştır. Bu da şehir sularının klorlanmasının koliformları ve *E. coli*'yi elimine ettiğini; ancak *Aeromonas* türlerinin klordan etkilenmediğinin en önemli kanıtı olarak gösterilmiştir(2).

Koliform tayini için kullanılan pozitif-negatif ve membran filtrasyon teknikleri ile ham su ve içme suyundan izole edilen *Aeromonas* türlerinin %30'unun laktozdan asit üretme yeteneğinde olduğu da yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur(55).

Tatlı su gölleri ve nehirlerindeki *Aeromonas* yoğunluğu 1cfu/ml- 10⁴cfu/ml arasındadır. Bu çevrelerdeki *Aeromonas* sayısı kanalizasyonlarla olan kontaminasyonun derecesine bağlı olmakla birlikte yine tatlı sulardaki besin durumu da *Aeromonas* yoğunluğunu etkilemektedir. Klorofil a ve fosfor kontaminasyonu ile *Aeromonas* yoğunluğu arasında pozitif bir bağıntı kurulmuştur. Bu da *Aeromonas*'ların besinlerini fitoplanktonlardan sağladığını göstermektedir. Ayrıca, su bitkilerinin dekompoze olmakta olan yüzeylerinde de yüksek sayıda *Aeromonas*'a rastlanmıştır. Su sıcaklığı da *Aeromonas* yoğunluğunu etkileyen faktörler arasındadır; genellikle yüksek sıcaklıklarda daha yüksek *Aeromonas* yoğunlukları gözlenmiştir, fakat 45 °C'nin üzerindeki su sıcaklığında *Aeromonas* bulunamamıştır. Dipteki çamurlarda bulunan *Aeromonas* sayısının ise 10⁷cfu/ml kadar yüksek olabileceği bildirilmiştir(56).

Aeromonas türlerinin su örneklerinde dağılımı incelendiğinde, *A. hydrophila*'nın kaynak sularında (%80 pozitif), *A. caviae*'nin deniz sularında (%60 pozitif), *A. sobria*'nın göllerde (%50 pozitif) daha yaygın buldukları bildirilmektedir(1).

2.8.1.2. Kanalizasyonlar

A. hydrophila insan gastrointestinal sisteminin geçici bir üyesidir. Bu yüzden *A. hydrophila*'nın insanlar tarafından çevreye verilmesi bakteri için ana kaynak

değildir. Ancak, insanlardan kanalizasyonlara geçen *Aeromonas* türlerinin uygun koşullarda kanalizasyon hattı boyunca çoğalarak, boşaltım noktasında önemli sayılara ulaşip enfeksiyonlar için önemli bir etken oluşturabileceği bildirilmiştir(56).

2.8.2. Gıdalar

2.8.2.1. Deniz Ürünleri

A. hydrophila'nın bilinen en yaygın kaynakları deniz ürünleridir. Bu organizma sağlıklı balıkların doku ve intestinal floralarının da bir üyesidir. Diğer bir bilinen kaynak ise deniz kabukluları, özellikle de istiridyelerdir. Genel olarak deniz kabukluları gıda kökenli hastalıklarla ilişkili araçlar olarak bilinirler. ABD'de 1900'den beri 11.600'ün üzerinde deniz kabuklusu kökenli hastalık rapor edilmiştir. Birçok deniz kabuklusu kökenli salgının etkeni tam olarak belirlenememiştir. Ancak bunların sebebinin viral patojenler, *Vibrio* türleri ve *A. hydrophila* ile ilişkili oldukları tahmin edilmektedir(57).

2.8.2.2. Etler

Aeromonas'lar tavuk, biftek, domuz eti, kuzu eti ve süt gibi hayvansal ürünlerin buzdolabında bozulmaları ile ilişkili olabilmektedir. Bozulmakta olan bu tip gıdalarda ki dominant organizma *Pseudomonas* türleri iken düşük sayıda *Aeromonas*'a da rastlanır. *A. hydrophila* fakültatif anaerobik bir organizma olduğundan dolayı değiştirilmiş atmosferle paketlenen ürünlerde *A. hydrophila* üremesi büyük bir ilgi çekmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu *Aeromonas*'ların hemen hemen bütün taze etlerde bulunduğu ve modifiye edilmiş atmosfer kullanarak buzdolabı sıcaklığında saklama süresinin uzatılmasının *Aeromonas*'ların çok yüksek sayılara ulaşmasına neden olduğu bildirilmiştir(57).

2.8.2.3. Çiğ Süt

Aeromonas'ların sütlerde bulunuşlarına dair yapılan çalışmalar azdır. 1991 yılında Freitas ve ark. Brezilya'da yaptıkları çalışmada pastörize süt örneklerinin %28.5'inden ve beyaz peynir örneklerinin %32'sinden *Aeromonas* izolasyonu

yaptıklarını bildirmişler ve bu kontaminasyonun pastörizasyon sonrası gerçekleştiğini göstermişler(8).

2.8.2.4. İnsanlar

Gıda üretim sektöründe çalışan asemptomatik bireylerin de, *Aeromonas* türleri için önemli bir kaynak olabileceği bildirilmiştir. Kontamine gıdaların özellikle, immün sistemi baskılanmış kişiler için tehlike oluşturabileceği de ifade edilmiştir (57).

A. hydrophila insan gaitalarından diğer barsak patojenleri ile beraber izole edilirken bazı durumlarda da tek enterik patojen olarak izole edilmiştir(58). Yine *A. hydrophila*'nın gastroenteritli çocuklardan, sağlıklı çocuklarda olduğundan çok daha fazla izole edildiği ve hasta olmayan insanlardan izolasyonunun nadir olduğu bildirilmiştir(59).

2.9. *Aeromonas* türleri'nin insanlarda neden olduğu hastalıklar

Sınıflandırmaya göre insanlarda hastalıklara neden olan suşlar, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* ve *A. salmonicida* olarak bildirilmiştir. Balıklarda ve soğuk kanlı sürüngenlerde septisemiye neden olabilen *A. hydrophila*'nın bazı suşları insanlarda ekstraintestinal ve yara enfeksiyonlarına neden olabilmesine karşın; *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* insanlarda enterit'e neden olabilir. *A. schubertii* ve *A. jandaei* gibi diğer türler de insanlar için potansiyel patojenik türlerdir ve suda bulunurlar(39). *Aeromonas* cinsi bakterilerin insanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar iki farklı şekilde ortaya çıkabilir. Bunlar ekstraintestinal enfeksiyonlar ve gastrointestinal enfeksiyonlar olarak bilinirler.

2.9.1. Ekstraintestinal enfeksiyonlar

A. hydrophila'nın ilk ekstraintestinal izolatları, 1954 yılında Bras ve ark. tarafından bir gazlı gangren vakasından ve yine 1954 yılında Hill ve ark. tarafından metastatik myositis vakasından izole edilmiştir. Kan kültüründen yapılan ilk izolasyon ise 1955 yılında Kjemes tarafından bildirilmiştir(1).

A. hydrophila genellikle immün sistemi baskılanmış olan insanlarda septisemiye neden olur. *Aeromonas* septisemisi görülen hastaların çoğunda genellikle karaciğer hastalıkları, kanser veya lösemi sonucu oluşan bozulmuş immün sistem vardır. Septisemi, bazen çevresel bir suyla kontamine bir yara enfeksiyonu'nu takip eder, bazen de cerrahi bir yara *Aeromonas* ile enfekte olmakla birlikte, intestinal bölge kolonizasyonu'nun bir sonucu olarak da oluşabilir. Lösemi veya karaciğer bozukluğu olan hastalar, özellikle taşıyıcı sistemler yoluyla barsaklardan gelen enfeksiyonlara karşı duyarlıdırlar. Bu duyarlılık, gastrointestinal çeperlerde toksik ilaçlar yüzünden oluşan ülserler ve mukozal hasarlar veya hepatik retiküloendotelial sistem bozukluğu sebebiyledir(1).

Bunlardan başka çeşitli enfeksiyonlardan da *Aeromonas* suşları izole edilmiştir(2,5,8).

2.9.1.1. Su ile temas sonrası gelişen enfeksiyonlar

Çoğunlukla yüzme, dalma gibi su etkinlikleri sırasında yaralanmalardan sonra gelişen cilt enfeksiyonlarıdır. Boğulma olaylarından sonra aspirasyon pnömonisi, açık kırık ve yaraların su ile temasından sonra osteomyelitler de bildirilmiştir. Enfeksiyonların seyri oldukça değişiktir. Bir kısmı uygun antibiyotik tedavisi ile sekelsiz iyileşirken, bir kısmı selülit, fulminan myozit ve sepsis ile birlikte cerrahi girişim gerektirebilmekte veya ölümle sonuçlanabilmektedir(61,62).

2.9.1.2. Kanserli hastalar

Bildirilen olguların üçte ikisi bu gruba aittir. Özellikle hematolojik kanserli hastalar, fırsatçı *Aeromonas* enfeksiyonlarına yatkındırlar. Bu hastalarda lokal *Aeromonas* enfeksiyonlarının yayılarak sepsise yol açtığı düşünülmektedir. Sepsislere sıklıkla ektima gangrenozum gibi cilt belirtileri eşlik etmektedir. Hematoloji hastalarında spontan osteomyelit, septik artrit, pnömoni myozit ve menenjit geliştiği bildirilmektedir(63).

2.9.1.3. Hepatobiliyer bozukluğu olan hastalar

Siroz, hepatoma, hepatit, karaciğer absesi, kolanjit, kolesistit veya safra yolları tıkanıklığı olan hastalar *Aeromonas* enfeksiyonuna daha yatkındır. Bunlar, hematolojik kanserli hastalardan sonra ikinci büyük grubu oluştururlar.

2.9.1.4. Diğer *Aeromonas* enfeksiyonları

A. hydrophila lokalize deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından da sorumlu olabilir. *Aeromonas* türlerinin difüzyon yeteneklerinin yüksek olması nedeniyle su ve toprak ile kontamine olmuş yaralarla ilişkilidir.

Böbrek yetmezliği olan hastalarda peritonit, sepsis ve diyaliz sıvısı kontaminasyonları bildirilmiştir. Diyabetli hastalarda ayak yaralarından ve dekübitus ülserlerinden *Aeromonas* izolasyonu bildirilmiştir. Gastrointestinal bozukluğu olan hastalarda perfore apandisit, ülser kanamaları, kolonun gangrenöz abseleri, ileum perforasyonu, postoperatif yaralar, enterokolit ile ilişkili *Aeromonas* enfeksiyonları bildirilmiştir(64,65).

Sağlıklı gebeler ve olumsuz şartlarda doğum sonrası yenidoğanlarda sepsis olguları bildirilmiştir. Ayrıca vajinal kolonizasyona bağlı septik abortus sonrası gelişen olgularda vardır. Çoğunluğu beyin cerrahisi girişimleri sonrasında hastane enfeksiyonları olmak üzere menenjit olgularına da literatürde rastlanmaktadır(11).

Bunlardan başka oldukça nadir olarak göz, solunum yolları materyalleri, boğaz ve balgam örnekleri, cilt ülserleri, selülit örnekleri, endokarditli olguların kan kültürleri ve skrotal gangren örneklerinden de izole edilmiştir. Bu olguların bazılarında geçici kolonizasyon düşünülmüştür(66). Bazı araştırmacılar hastane ortamından izolasyon yaparken, bazıları izole edemediğinden bu enfeksiyonların endojen kaynaklı olabileceğini düşünmüşlerdir. Hastanelerde, musluk suyu, diyaliz sıvıları, plazma ürünlerinde üretilmelerinden dolayı, hastane ortamının önemli bir enfeksiyon kaynağı olabileceği de ileri sürülmüştür. Ayrıca, sürekli ambulatuar periton diyalizi uygulanan bir hasta da peritonite yol açtığı bildirilmiştir(67).

2.9.2. Gastrointestinal enfeksiyonlar

Çevrede ve gıdalarda *Aeromonas* türlerinin yaygınlığı kontamine gıdaların alınmasından sonra insanlarda enterit oluşturma özelliğinden dolayı, çoğunlukla potansiyel gıda zehirlenmesi etkenleri olarak kabul edilmişlerdir. *Aeromonas* türleri sıklıkla çocukluk diarelerine neden olan su kaynaklı organizmalardır. Hareketli mezofilik *Aeromonas*'lar içme suyu dağıtım sistemlerini içeren akuatik çevrede geniş çeşitlilikte bulunur. Genel kullanıma sunulan içme suyu kaynaklarında mezofilik *Aeromonas*'ların bulunması, gastroenteritler için *Aeromonas*'larında göz önünde bulundurulması gereğini açıklamıştır. Bütün enteropatojenik bakteriler gibi *Aeromonas* türlerinde de patojenite genel olarak doku adherensi ve toksin üretimi ile ilişkilidir(39). Diare ve kolitise neden olurlar(68). Diare, hem konakçının hem de mikroorganizma'nın ortak fonksiyonları sonucunda oluşan bir hastalıktır(1). Bildirilen klinik tablolar ateş, bulantı, kusma, sıvı kaybı, kas krampları ile birlikte olabilen koleraya benzer, sulu yada kanlı ishal şeklindedir(69).

Plesiomonas ve *Vibrio* türlerinin aksine *Aeromonas*'ların sağlıklı insanlarda sebep olduğu herhangi bir ishal salgını henüz bildirilmemiştir. Ayrıca sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan denemelerde her zaman enfeksiyon oluşturulamamıştır. Dışkılarından *Aeromonas* ayrılan hastaların serumlarında çeşitli yöntemlerle antikorlar araştırılmış, bunlardan nötralizan antikorların hastalıkla korelasyonlu olduğu gözlenmiştir(70). Ancak *Aeromonas*'ların barsak enfeksiyonları oluşturduğuna ilişkin bildiriler giderek artmaktadır. Değişik coğrafi bölgelere göre *Aeromonas* cinsi bakterilerin klinik ve çevre izolatlarının profilleri değişmektedir. İshalli hastalardan izole edilen kökenlerin, hemagglütinasyon özelliklerinin, çevre kökenlerinden farklı ve klinik kökenlere göre daha değişken olduğu bildirilmiştir(71).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar *Aeromonaslar*'ın gıda ve çevresel örnekler aracılığıyla hızla yayılmakta olduğunu bildirmektedir(68). Avustralya ve Tayland'ta *A. hydrophila* ve *A. sobria* ön plandayken, Avrupa ve Amerika'da *A. caviae* baskın tür olarak bildirilmektedir. Bildirilen çalışmaların bazılarında yaş ve cinsiyete göre farklılık saptanmazken, genelde çocukluk çağında ki gastroenteritlerde *Aeromonas*'ların erişkinlere göre daha sık rastlandığı gözlenmiştir(45,72). Bazı

çalışmalarda, içme sularının bu bakterilerle kontaminasyonuna atfedilen vakalar saptanmıştır(14). Yanı sıra *Aeromonas* cinsi bakteriler turist ishaline de yol açmaktadır(73). Vaka bildirimlerinde *A. hydrophila* ile ilişik olan enterokolitden sonra gelişen bir hemolitik üremik sendrom bildirilmiştir(74).

Yapılan birçok değişik çalışma sonucunda *A. hydrophila*'nın hemolizin ve enterotoksin üretimi ile ishal oluşumu arasında önemli bir bağlantı olduğu bulunmuştur(7). Sitotoksik *A. hydrophila*'nın Rhesus maymunlarında oral yoldan alınması (10^9 cfu) ishal ile sonuçlanmış ve gönüllü insanlarda yapılan bir çalışmada da enterotoksin üreten organizmaların ağızdan alınmasının ishale neden olduğu gösterilmiştir(75).

Turist diarezi olarak bilinen enfeksiyon gastrointestinal kanalda sınırlı ancak oldukça yaygın bir sendromdur. Klinik bulgular kolera'dan daha az dramatik olmasına rağmen sıvı dışkılama, ateş, kusma, bazen kanlı veya mukuslu diare şeklinde bulguların oluşması önemini artırmaktadır. Son zamanlardaki gastroenteritini izleyen dönemde **2.10. *Aeromonas* cinsi bakterilerin antimikrobiyallere duyarlılıkları**

Çeşitli *Aeromonas* türlerinde, çeşitli antibiyotiklere dirençlilik genleri taşıyan R faktörleri bulunmuştur. Bu R faktörlerinin hepsinin fi tipinde olduğu gösterilmiştir(76).

Aeromonas cinsi bakterilerin hemen tümü Penisilin, Ampisilin (*A. trota* duyarlı) ve Karbenisiline dirençlidir. Üreidopenisilinlerin etkinlikleri değişkendir.

Üçüncü kuşak sefalosporinler de *Aeromonas*'lara karşı etkili olmakla beraber, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlerin etkinlikleri değişkenlik göstermektedir. Burada önemli olan nokta *A. sobria* kökenleri çoğunlukla Sefolotine duyarlı iken, diğer türler dirençli olup bu özelliğın tür ayırımında kullanılabileceğii bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda *A. hydrophila* kökenleri, *A. sobria* ve *A. caviae* kökenlerine göre daha dirençli bulunmuştur(77).

İmipenem ve Aztreonam, *Aeromonas* cinsi bakterilere karşı yüksek etkinlik göstermekle beraber, bu bakterilerin İmipenem ve diğer Karbapenemleri parçalayan,

metallo beta-laktamazlar yaptıkları bildirilmiştir. Bundan başka da değişik etkinlikte ve değişik substratlara yönelik beta-laktamazlarda yaptıkları bilinmektedir(78-80).

Klinik suşlardan elde edilen *Aeromonas* türlerinin Kloramfenikol, Tetrasiklin ve Trimetoprim/Sulfametaksazol'e değişik oranlarda direnç gösterdikleri bildirilmiştir(81).

Ampisilin/Sulbaktam ve Sefoksitin'e olan kombine direnç *Aeromonas* türleri suşlarında en sık tanımlanan profildir. Tetrasiklin'e ve Kloramfenikol ile birlikte diğer antimikrobilyallere olan direnci içeren çeşitli profiller, *Aeromonas* türlerine çoklu direnç kazandırmıştır(68).

2.10.1. *Aeromonas* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri

Aeromonas türlerinin çoğu Penisilin, Ampisilin, Karbenisilin, Tikarsilin'e dirençli, geniş spektrumlu Sefalosporinler, Karbapenemler, Aminoglikozidler, Kloramfenikol, Tetrasiklin, Trimetoprim/Sulfometaksazol ile Kinolonlara duyarlıdır.

Aeromonas'ların önemli bir bölümü giderek artan bir biçimde indüklenebilir beta-laktamaz üretmekte ve bu nedenle birçok antibiyotiğe dirençli hale gelmektedir. Son yıllarda Tetrasiklin, Trimetoprim/Sulfometaksazol, bazı geniş spektrumlu Sefalosporinler ile Aminoglikozidlere karşı direnç kazandığı görülmektedir. Ayrıca *A. jandei*, *A. schubertii*, *A. trota* ve *A. veronii*'nin İmipenem'e, Ampisilin/Sulbaktam'a yüksek oranda direnç oluştuğu bildirilmiştir(82).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Su örneklerinin alınması ve incelenmesi

Su örnekleri önceden belirlenen istasyonlardan 50ml'lik 2'şer adet steril falkon tüplerine alınması planlandı. Farklı amaçlar için pek çok kez kullanılan musluklar örneklem için açılmadan önce musluk ağzı alevden geçirilerek kuru ısı ile sterilize edildi. Ardından musluk orta şiddette açılarak 2 dakika boşa akıtılarak falkon tüpünün ağzı alevden geçirilerek musluk suyu örneklerinin alımı gerçekleştirildi. Su örnekleri alındıktan sonra tüplerin ağızları tekrar alevden geçirilip kapakları kapatıldı. Çalışmaların yapılması için örnekler en geç 2 saat sonra işleme alındı. Falkon tüpleri önce 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüplerde yaklaşık 0,5ml sediment kalacak şekilde üstteki sıvı döküldü. Kültür için yapılacak ekimlerde elde edilen sediment kullanıldı.

3.1.1. Örnek alımı

Su örneklerinde *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığını araştırdığımız çalışmamızda, nüfus yoğunluğu ve kullanım amacı göz önüne alınarak 35 farklı noktadan 70 su örneği almayı planladık. Üniversitemizden temin edilen araç ve oluşturulan çalışma ekibiyle ard arda iki günde saha çalışmalarını tamamladık ve 70 su örneğinin (Tablo-2) alımını gerçekleştirdik. Sabah saatlerinde su örneklerini alıp akabinde laboratuara dönüldü. Laboratuar çalışmaları ortalama 2 saat içerisinde gerçekleştirildi.

3.1.2. İzolatların identifikasyonu

Sahadan getirilen örneklerden vakit geçirmeden seçici besiyerlerine çizgi ekim yapıldı ve 37 oC de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Yapılan çalışmada seçici besiyeri olarak Ampisilinli kanlı agar kullanıldı. Bu besiyerlerinde üreyen bütün tipik koloniler için ön doğrulama testleri katalaz ve oksidaz bakılarak gerçekleştirildi.

3.1.2.1. Kültürel özellikler

İzolatlar Ampisilinli kanlı agar'a ekildi ve 28 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra oluşan koloniler, morfoloji, renk, koku ve pigmentasyon bakımından incelendi (76).

3.1.2.2. Mikroskopik özellikler

Ampisilinli kanlı agar'da ki 24 saatlik inkübasyon sonucu meydana gelen üremelerde şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı, bakteri morfolojileri ve boyutu 100X'lük büyütmede immersiyon mikroskopunda incelendi (1).

3.1.2.3. Biyokimyasal özellikler

Tür identifikasyonunda iki yöntem kullanıldı. Birinci yöntem, otomatize sistem olan Becton Dickinson (BD)-Phoneix-100 cihazı olup tüm şüpheli örnekler bu sistemle işleme alındı. İkinci yöntem olarak Aerokey-II yöntemi seçilmiş olup identifikasyon için kullanılan biyokimyasal özellikler literatüre uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo-2: Örneklerin alındığı istasyonlar

Örneklerin alındığı yerler-1	Örnek sayısı	Örnek sayısı	Örnek sayısı
Çakırköy	2 su örneği	2 su örneği	Cezaevi
Erkmen	4 su örneği	4 su örneği	Ataköy
Mecidiye	5 su örneği	5 su örneği	Hızırkent
Anıtpark	1 su örneği	1 su örneği	Devlet Parkı
Çavuşbaş	3 su örneği	3 su örneği	Yeşilyol
İmaret	2 su örneği	2 su örneği	Ordu Bulvarı
Karayolları	1 su örneği	1 su örneği	Stadyum
Hıdırlık Parkı	1 su örneği	1 su örneği	Ambaryolu
			Dumlupınar

Örneklerin alındığı yerler-2	Örnek sayısı
Kurtuluş	1 su örneği
Pazaryeri	1 su örneği
Otogar	1 su örneği
Sanayi	2 su örneği
Güvenevler	2 su örneği
Harb-iş	2 su örneği
Fatih	2 su örneği
Eşrefpaşa	2 su örneği
Sahipata	3 su örneği

Sadıkbey Kasabası	1 su örneği
Demirçevre Kasabası	2 su örneği
Kaplıca	2 su örneği
Fethibey Kasabası	3 su örneği
Çayırbağ	2 su örneği
Erenler Köyü	1 su örneği
ANS Kampusü	2 su örneği
Bayındırlık	2 su örneği
Uydukent	1 su örneği

3.2. İdentifikasyonda kullanılan besiyerleri ve ayıraçlar

3.2.1. Ampisilinli kanlı agar

Trypticase / Pepton

15g

Soytone (soya enzimatik hidrolizati)	5g
NaCl	5g
Agar	15g
Saf su	1000ml

Karışım ısıtılarak eritildi pH 7.3'e ayarlandı. Otoklavda 121 °C'de sterillendirildikten sonra 50 °C'ye soğutuldu. Defibrine koyun kanından 70ml eklendi. Daha sonra 10mg Ampisilin ilave edildi. Steril petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülen besiyeri kullanılıncaya değin buzdolabı ısısında saklandı. Saklama sırasında dış etkenlerden korunması için petri kutularının kenarları parafilm bantla sarıldı ve ilk ayırım besiyeri olarak kullanıldı. Bu ortam izolatların alfa, beta, gama hemolizin üretimlerinin saptanmasında yardımcı olmuştur(83).

3.2.2. Mueller-Hinton Besiyeri

Sığır et suyu(B21)	300ml
Casein hydrolysate	17,5g
Nişasta	1,5g
Agar	40g

Ticareten sağlanan (Oxoid England) 40gr agar 1000ml distile su içinde çözülene kadar karıştırıldı ve eriyinceye kadar kaynatıldı. pH'sı 7.4'e ayarlandı. Otoklavda 121 oC'de 15 dakika sterillendi. Petri kutularına 4mm kalınlığında döküldü. Plaklar kullanılana dek buzdolabında saklandı(83). Saklama sırasında dış ortamdan kaynaklı olumsuzluklardan korunmak için parafilm bantla plakların kenarları sarıldı.

3.3. BD-Phoneix Sistem

FDA (Food and Drug Administration) onayı alan en yeni sistem otomatize edilmiş Phoneix, mikrobiyolojik identifikasyon amaçlı kullanılmaktadır (BD Tanı sistemleri, Sparks, MD). Bu otomatize edilmiş sistem Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri büyük oranda saptayabilmektedir(84). Ayrıca klinik olarak önemli bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık testlerinin hızlı gerçekleştirilmesi için tasarlanmış bir sistemdir. Phoneix ID panelinde kullanılan testlerin çoğu klasik metodların bir modifikasyonudur. Bu metodların içinde fermantasyon, oksidasyon, degradasyon ve hidroliz vardır.

Sistem, tek kullanımlık paneller, tanımlama (Identification-ID) ve antibakteriyel duyarlılık testi(Antimicrobial Susceptibility Testing-AST) için besi yerleri ve bir duyarlılık test belirteci(İndikatör) içermektedir. Sistem 100 taneye kadar ID ve AST kombinasyon panelini eş zamanlı olarak analiz edebilmektedir. Tek kullanımlık test panelleri 136 tane mikrodilüsyon kuyucuğu içermektedir ve bu test panelleri sadece ID, ID/AST ve sadece AST formatındaki analizlere imkan sağlamaktadır. Paneller her 20 dakika bir alet tarafından düzenli olarak okunmaktadır(84).

İzolatlar karbohidratları kullandıklarında oluşan asit fenol-red indikatörünü değiştirmektedir. Kromojenite substratlar p-nitrojenit yada p-nitroanilid komplementlerden birini enzimatik hidroliz ile sarı renge dönüştürmektedir.

Ornitinin kullanımı ile pH artışları ve flouresent indikatörde değişiklikler olmaktadır. Ürenin hidrolizi ile alkali madde oluşmakta, pH artmakta, flouresan indikatör renk değiştirmektedir. Eskulinde aynı şekilde reaksiyon vermektedir.

Phoneix Sistemleri Tanımlama(Saptama) Metodu(ID): Phoneix ID metod modifiye konvensiyonel, florojenik ve kromojenik substratları kullanılmaktadır. Hem ID için hem de AST için sadece kontrol amacı ile kullanılan kombinasyon panelleri (NMIC/ID-55) karşılaştırma için kullanıldı. ID alanı içerisinde kurutulmuş biyokimyasal substratlar bulunan 45 kuyucuk ve 2 tane de kontrol florasans kuyucuğu içermektedir. ID besi yeri CristalSpek spektrofotometre (BD Diagnostik) kullanılarak 0,5 McFarland standardında ayarlanmış bakteriyel kolonilerle inoküle

edildi. Süspansiyon AST için 25µl' lik kısmı çıkarıldıktan sonra Phoneix panelindeki ID alanına döküldü. Hazırlanan örnek 30 dakika içerisinde aletin içerisine konuldu. Kalite kontrol ve idame üreticilerin tavsiyeleri doğrultusunda gerçekleştirildi(84).

Phoneix sistemleri antimikrobiyal duyarlılık testi (AST): Kombinasyon panellerinin AST bölümü kurutulmuş antimikrobiyal panelleri içeren 84 kuyucuk ve bir tane de büyüme kontrol kuyucuğundan oluşmaktadır. Analiz, besiyeri temelli bir mikrodilüsyon testidir. Sistem, antimikrobiyal bir ajan varlığında organizmaların büyümesini saptamak için bir redox indikatörü kullanmaktadır. Çalışmada bir damla AST indikatörü AST besiyeri tüpüne konuldu. Yaklaşık son konsantrasyonu 5x10⁵cfu/ml yapmak için, 25 mikrolitre standardize ID besi yeri süspansiyonu AST besiyerine transfer edildi. Kalite kontrolü üreticilerin tavsiyeleri doğrultusunda gerçekleştirildi (84).

3.4. Aerokey-II yöntemi

Klinik *Aeromonas*'ları tanımlamak için, Eskulin hidrolizi, Glikozdan gaz oluşturma, Arabinoz'dan asit oluşturma, İndol üretimi, Sukrozdan asit oluşturma, Voges-Proskauer reaksiyonu, Sefalotine karşı direnç gibi biyokimyasal testlerin kullanıldığı bir yöntemdir(21).

3.4.1. Oksidaz testi

Bir parça filtre kağıdı, tetramethyl-p-phenylenediamine-dihydrochlorid'in (kovacs ayıracağı) %1'lik solüsyonunun birkaç damlası ile ıslatıldı ve bu solüsyon kullanılacağı gün taze olarak hazırlandı. 24 saatlik Nutrient agar kültüründen bir öze dolusu organizma, platin bir öze ile alındı ve filtre kağıdının üzerine yayıldı. Gözlem esnasında 10 saniye içinde menekşemsi-mor bir rengin oluşması test için pozitif bir sonuç olarak değerlendirildi(83).

3.4.2 Katalaz

Kansız besiyerlerinde üretilmiş bakteri kültürlerinin üzerine 1ml %3 hidrojen peroksit ilavesi ile katalaz olumlu olanlarda gaz kabarcıklarının oluşumu izlendi(83).

3.4.3. Hareket

Bakteri kültüründen alınan koloni, lam üzerine damlatılan 1 damla serum fizyolojik ile süspanse edildikten sonra üzeri lamelle kapatılıp ışık mikroskopunda incelendi. İncelemenin optimizasyonu için sıvı hareketinin yavaşlamasına özen gösterildi.

3.4.4. Karbonhidratların fermentasyonu

Fermentasyon denemelerinde karbon kaynakları olarak; Sukroz, Mannitol, İnositol, Ksiloz ve Galaktoz kullanıldı. Denemeler içinde 10ml fenol-red'li Laktöz Broth besiyeri bulunan tüplerin içine ters çevrili durham tüpleri konularak yapıldı. Besiyerlerinin pH'sı 6.9'a ayarlandı ve denenecek olan ısıya dayanıklı karbon kaynakları besiyerlerine %0.5 oranında konularak besiyerleri otoklavda steril edildi. Isıya duyarlı şekerlerin sterilizasyonları ise membran filtre ile yapıldı ve bu şekerler otoklavdan sonra son konsantrasyonları %0.05 olacak şekilde besiyerlerine aseptik koşullarda ilave edildi. Denenecek karbon kaynağı bu şekilde sonradan ilave edilen tüpler 1 gün süre ile şekerlerin durham tüplerinin içine difüze olabilmeleri için bekletildi. Bu şekilde hazırlanan besiyerlerine standart 4mm öze ile ekim yapıldı ve 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinin renginin sarıya dönmesi ile beraber durham türlerindeki gaz oluşumu, karbon kaynaklarının fermentasyonu için pozitif sonuç olarak değerlendirildi(83,85).

3.4.5. %0 ve %6 tuzlu Nutrient Besiyerleri

Önerilen miktarda nutrient broth base %0'lık için, 1000ml'de eritildi. Nutrient besiyeri olarak bilinen %6'lık içinse, ikinci bir besiyeri hazırlandı ve içine ayrı olarak 65g NaCl eklendi. Besiyerleri 5'er ml'lik hacimlerde tüplere dağıtıldıktan sonra otoklavda 121 °C'de steril edildi. Hazırlanan bu besiyerleri *Aeromonas* kökenlerinin tuz toleranslarının değerlendirilmesinde kullanıldı(86). Ayrıca; %0.01 eskülin ve %0.05 ferrik sitrat ile desteklenmiş nutrient broth'a TSBAB'de büyütülen 1 günlük kültürlerden ekim yapıldı ve 24 saat sonunda ortam renginin kahverengisiyah olması pozitif, renk değişiminin olmaması negatif sonuç olarak değerlendirildi(83).

3.4.6. DNA'az Test Agar

DNA'az test agar için önerilen miktar 1000ml içinde eritildi. Otolavda sterillendikten sonra, petri kutularına dağıtıldı. Denenecek kökenler, yaklaşık 1 cm²'lik alana yoğun bir şekilde ekildi. 18-24 saat inkübasyondan sonra, besiyerinin üzerine 1N HCl döküldü. Üreme alanının etrafında saydamlaşma, pozitif olarak değerlendirildi(86).

3.4.7. İndol oluşumunu göstermek için kullanılan çözelti

Bu amaçla Ehrlich çözeltisi kullanıldı(87).

Para-dimetil amino benzaldehid	5g
Metanol	50ml
Fosforik asit	10ml

Maddeler karıştırılarak eritildi. 5x0,5cm boyutlarındaki süzgeç kağıtlarına emdirildi. Kurutulduktan sonra 24 saatlik bakteri kültüründen ekim yapılan triptofanca zengin bir besiyeri olan jeloz besiyerlerinin pamuk tıkacı ile tüp arasına sıkıştırıldı. 30 °C'de 24 saat bekletildikten sonra, kağıdın kızarması uçucu indol varlığının kanıtı olarak kabul edildi.

3.4.8. Tiyosülfattan H₂S oluşumunu göstermek için kullanılan çözelti

Kurşun asetat	10g
Damıtık su	100ml

Çözelti hazırlanarak 5x0,5cm boyutlarındaki süzgeç kağıtlarına emdirildi. Kurutma işlemi uygulanarak tiyosülfat içeren C besiyerine ekim yapıldıktan sonra pamuk tıkaç ile tüp arasına süzgeç kağıtlar sıkıştırıldı. Kağıtta kararına olumlu sonuç olarak değerlendirildi(87).

3.4.9. Mannitol

Çoğu Gram negatif ve bazı Gram pozitif bakterilerin üremelerini baskılayan besiyeridir. *Aeromonas* türlerinin ayırımında kullanılan besiyerinde mannitolün fermantasyonu sonucu besiyeri içeriğinde bulunan fenol kırmızısının sarıya dönmesi izlendi(83).

3.4.10. m-İnositol ksiloz agar

Maya özü	3g
NaCl	3g
MgSO ₄ *7 H ₂ O	0,2g
Safra tuzları NO:3(Difco)	1,5g
Amonyum ferrik sitrat	0,1g
KCL	2g
Brom timol mavisi	0,005g
Damıtık su	900ml

Bu maddeler karıştırılıp eritildikten sonra pH 7,2'ye ayarlandı. 15g agar eklendikten sonra kaynatılarak agar eritildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi(88).

3.4.11. Üreaz

Filtre ile steril edilmiş %20'lik üre solüsyonu son konsantrasyonu %2 olacak şekilde, 45 °C'ye soğutularak üre agar'a steril koşullarda ilave edildi, daha sonra nutrient agar'daki 24 saatlik kültürlerden üre agarlara inokülasyon yapıldı. 37 °C'de 1-7 gün inkübasyon yapıldı ve her gün sonunda üre agar'daki renk değişimi kontrol edildi. Fenol-red indikatörünün başlangıçtaki rengi pH 6 ve daha aşağıda sarı renklidir. Organizma üreaz enzimine sahip ise NH₃ açığa çıkacağından dolayı ortamın pH'sı yükselir ve rengi pembeleşir. İnkübasyon süresi sonunda pembe renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi(85).

3.4.12. Eskülin Agar

Beyin-Kalp infüzyon agarı	40g
Ferik sitrat	0,5g
Eskülin	1,0g
Damıtık su	1000ml
pH 7,0	

Maddeler ısıtılarak eritildikten sonra 5ml tüplere dağıtıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Eğri olarak dondurulan besiyerleri kullanılıncaya kadar buzdolabında saklandı(86).

3.4.13. Glukozdan Asetoin Üretimi(Voges-Proskauer)

24 saatlik saf kültürlerden, içinde 5'er ml Clark-lubs besiyeri bulunan tüplere inokülasyon yapıldı. Daha sonra kontrol için bir tüp inokülesiz bırakıldı. İnokülasyon yapılan tüpler 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her kültürden temiz bir tüpe 1ml aktarıldı daha sonra bunun üzerine önce α -Naftol çözeltisinden 0,5ml ve daha sonra da %40'luk KOH çözeltisinden 0,5ml ilave edildi. Tüpler çalkalanarak 5-10 dakika bekletildi, sonuçta kırmızı renge doğru bir pembeleşme pozitif sonuç olarak değerlendirildi(85).

3.4.14. MR/VP (Clark-Lubs) Besiyeri

Polypeptone	7g
Glukoz	5g
K ₂ HPO ₄	5g
Saf su	1000ml

Maddeler hafifçe ısıtılarak suda eritildikten sonra süzgeç kağıtlarından süzüldü. Soğuduktan sonra pH'sı 6,9'a ayarlandı ve 1000ml'ye tamamlandı. Tüplere 5'er ml dökülerek 121 °C'de 15 dakika otolavlandı. Bu besiyerinde asetoin yapımını göstermek için 48 saatlik kültüre Koblenz ayıracı kondu (83).

3.4.15. %1 Peptonlu Suda İndol Üretimi

Nutrient agar'da büyütülmüş 24 saatlik kültürlerden 10ml %1 peptonlu suya ekim yapıldı ve bu tüpler 37 ° C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her tüpe 1ml kloroform ilave edildi ve tüpler iyice çalkalandıktan sonra her tüpe birkaç damla kovaks çözeltisi damlatıldı. Sonuçta tüplerin üzerinde oluşan kırmızı renk indol üretimi için pozitif sonuç olarak değerlendirildi(83,85).

3.4.16. TSI (3 Şekerli Demirli Agar)

Gram negatif bakterilerin glikoz, laktoz ve sükroz üzerindeki etkilerini ve H₂S oluşturup oluşturmadıklarını araştırma temeline dayalı ön tanı değeri olan bir besiyeridir. Çalışmada *Aeromonas* türlerinin tanımlanması amacıyla kullanılmıştır. Kuşkulu bakteri kolonisine dokundurulan iğne öze ile alınan materyal önceden uygun olarak hazırlanan besiyerinin dik kısmına batırılarak ekim sonrada yatık kısma ekim yapıldı. Glikozu parçalayan bakteriler besiyerinin dip kısmında onu fermentasyon yolu ile parçalayarak bol miktarda çeşitli organik asitler yaparlar. Bunun sonucunda fenol kırmızısı ayırıcının sarı renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi. Bu parçalanma esnasında aynı zamanda tüpün dibinde oluşan gaz kabarcıkları gaz oluşumu olarak değerlendirildi(83).

4. BULGULAR

Bu çalışmada içme suyu olarak kullanılan şehir şebeke suyu ve kaynak suları *Aeromonas*'lar yönünden incelendi. *Aeromonas*'ların varlığına yönelik ilk çalışma olduğundan örnekler mümkün olduğunca Afyonkarahisar'ın farklı bölgelerinden alındı. Şehir şebeke suları ve arıtılmadan içilen sular farklı semtlerden seçildi. 70 örneğin; 16'sı (%22,9) kaynak suyu, 54'ü (%77,1) şehir şebeke suyu idi. *Aeromonas* izolatları kaynak sularından elde edilmiş olup şehir şebeke suyunda bulunamadı.

Üreme olan örneklerdeki koloni sayısı 100 ile 1000cfu/ml arasında değişmekteydi. İnkübasyon sonrası elde edilen izolatlar ilk önce hemoliz yönünden değerlendirildi. α , β ve γ hemoliz oluşturan kolonilerden Gram boyama yapıldı. Boyama sonucu Gram negatif basil olarak değerlendirilen mikroorganizmalara Oksidaz ve katalaz ön tanı testleri uygulandı. Katalaz ve oksidazı olumlu kolonilerden hareket bakıldı(Tablo-3). Öncelikle oksidaz, katalaz olumlu ve hareketli suşlar BD-Phoneix Sistemi ile değerlendirildi.

Tablo-3: Elde edilen kolonilerin ön tanı testleri

Köken no	Hemoliz	Gram boyama	Oksidaz	Katalaz	Hareket
2	β	Gram(-)basil	+	+	+
10	β	Gram(-)basil	+	+	+
13	α	Gram(-)basil	+	+	+
24	β	Gram(-)basil	+	+	+
35	α	Gram(-)basil	+	+	+
57	β	Gram(-)basil	+	+	+
66	α	Gram(-)basil	+	+	+

Örnek No	2	10	13	24	35	57	66
ID SONUCU	<i>A.sobria</i>	<i>A.hydropila</i>	<i>A.caviae</i>	<i>A.sobria</i>	<i>A.caviae</i>	<i>A.veronii</i>	<i>A.caviae</i>
ARARR	+	+	+	+	+	+	+
GUGAH	d	+	D	D	D	D	D
LLEUH	+	+	D	+	D	D	D
LPYR	-	-	-	-	-	-	-
ACT	D	D	-	D	D	D	-
CLST	-	D	-	-	-	-	-
MLO	D	D	D	D	D	D	D
NAG	+	+	+	+	+	+	+
BDGLU	-	+	D	-	D	+	D
BGEN	-	-	D	-	D	-	D
DGAL	-	D	D	+	D	D	D
DSBT	-	-	-	-	-	-	-
LARA	-	D	D	-	D	-	D
MTU	-	D	-	-	-	D	-
ORN	-	-	-	-	-	D	-
GLPRB	-	D	-	-	-	-	-
LARGH	+	+	+	+	+	D	+
LPHET	-	-	-	-	-	-	-
LTRY	-	-	-	-	-	-	-
ADO	+	D	D	D	D	D	D
DMNT	+	+	D	D	+	D	D
PXB	-	D	-	-	-	-	-
LGGH	-	-	-	-	-	-	-
BPHO	-	D	D	-	D	-	D
DEX	+	+	+	+	+	+	+
DGUA	+	D	D	+	+	+	D
DSUC	+	+	+	+	+	+	+
LRHA	-	D	-	-	-	-	-
NGA	-	+	-	D	-	D	-
URE	-	-	-	-	-	-	-
GLYB	-	-	-	-	D	-	-
LGTA	D	+	D	D	D	D	D
LPROB	+	+	+	+	+	+	+
LYALD	D	D	D	D	D	D	D
CIT	D	D	D	D	D	D	D
KGA	D	+	D	D	D	D	D
TIG	D	D	-	D	D	D	-
LPROT	D	+	D	D	+	D	D
BALL	-	-	-	-	-	-	-
DFRU	+	+	D	+	+	D	D
DMLB	-	-	-	-	-	-	-
GRA	-	-	D	-	D	-	D
MBGU	+	+	+	+	+	+	+
NGU	+	+	+	+	+	+	+
ESC	-	+	-	-	-	+	-

Tablo-4: BD phoneix sisteminin *Aeromonas spp.* paneli identifikasyon kriterleri

Çalışma kapsamında değerlendirilen 70 su örneğinin 7'sinden (%10,0) BD-Phoneix Sistemi ile *Aeromonas* türü bakteriler saptandı. BD-Phoneix Sistemi verilerine göre izolatların dağılımı; 1'i (%14,3) *A. hydrophila*, 3'ü (%42,9) *A. caviae*, 2'si (%28,6) *A. sobria* ve 1'i (%14,3) *A. veronii* şeklinde gerçekleştirildi. Elde edilen identifikasyon test sonuçları Tablo-4'da özetlenmiştir.

BD-Phoneix sisteminde *Aeromonas* türleri için antibiyogram panelleri bulunmadığından antimikrobiyal duyarlılık testleri konvansiyonel yöntemlerle gerçekleştirildi. İdentifiye edilen *Aeromonas* suşları için Mueller-Hinton agarda yapılan antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarının sonuçları Tablo-6'da gösterilmiştir.

Çalışmamızda *Aeromonas* suşları ile gerçekleştirilen tüm konvansiyonel antimikrobiyal duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) 2006 'ya göre yapılmıştır. İdentifiye edilen tüm *Aeromonas* suşları seftazidim(CAZ), sefotaksim(CTX), seftriakson(CRO), sefuroksim aksetil(CXM), imipenem(IPM), siprofloksasin(CIP) ve tikarsilin/klavulanat'a (TİM) duyarlı bulunmuştur. Bir *A. Caviae* ve bir *A. veronii* suşu Piperasilin-Tazobaktam'a (TZP), bir *A. caviae* suşu Sefaklor'a (CEC), bir *A. hydrophila* ve bir *A. caviae* suşu Amoksisilin/Klavulanat'a (AMC) dirençli ve bir *A. hydrophila* suşu amikasin'e (AK) orta duyarlı olarak bulunmuştur.

Tablo-5: İdentifiye edilen *Aeromonas* türlerinin duyarlılıkları

SUŞ	İPM	CAZ	CTX	CRO	CEC	AMC	TİM	CXM	TZP	CIP	AK
<i>A. sobria</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A. hydrophila</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	I
<i>A. caviae</i>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>A. sobria</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A. caviae</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
<i>A. veronii</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>A. caviae</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S

Ayrıca ön tanı testleri uygun olan izolatlar Aerokey-II yöntemiyle de tanımlanmaya çalışıldı. Bu yöntemle çalışmaya dahil edilen 70 su örneğinden 6'sının (%8,6) *Aeromonas* türü olduğu gözlemlendi. Aerokey-II yöntemine göre izolatların dağılımı; 3'ü (%50,0) *A. hydrophila*, 2'si (%33,4) *A. caviae* ve 1'i (%16,6) *A. veronii biovar sobria* şeklinde gerçekleşmiş olup sonuçlar Tablo-6'da gösterildi.

Tablo-6: Aerokey II yöntemi ile tanımlanan suşlar

Örnek Numarası	2	10	13	24	35	57	66
İdentifikasyon Sonucu	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. veronii biovar sobria</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	
Gram boyama	Gram (-) basil	Gram (-) basil	Gram (-) basil	Gram (-) basil	Gram (-) basil	Gram (-) basil	
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	
Katalaz	+	+	+(*)	+	+	+(*)	
Hareket	+	+	+	+	+	+	
Fermentatif	+	+	+	+	+	+	
%6 NaCl üreme	-	-	-	-	-	-	
DNA'az	+	+	+(*)	+	+	+	
İndol	+	+	+	+	+	+	
SodyumTiyosülfattan H ₂ S oluşturma	+(*)	+(*)	-	-	+(*)	-	
Mannitol	+	+	+	+	+	+	
Galaktoz	+	+	+	+	+	+	
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	
İnositol	-	-	-	-	-	-	
Üreaz	-	-	-	-	-	-	
Vibriostatik ajana duyarlılık	R	R	R	R	R	R	
Eskulin hidrolizi	+	+	+	-	+	+	
Voges-proskauer	+	+	+	+	+	-	
Arabinoz	+	+	+	-	+	+	
Sukroz	+	+	+	+	+	+	
Glikozdan gaz (TSI'de)	+	+	-	-	+	-	
Sefolatine'e duyarlılık	R	R	R	S	I	R	

İdentifikasyon sonuçlandırılmamıştır

İdentifikasyon çalışmaları incelendiğinde iki yöntem arasında farklılık olduğu gözlenmiş olup bu farklılıklar Tablo 7'de belirtilmiştir.

Tablo-7: İki farklı çalışmada izole edilen *Aeromonas* suşlarının yüzde oranları

İzole edilen suşlar	BD-Phoneix sistem(%)	Aerokey-II(%)
<i>A. hydrophila</i>	1(%14,3)	3(%50,0)
<i>A. caviae</i>	3(%42,9)	2(%33,4)
<i>A. sobria</i>	2(%28,6)	-
<i>A. veronii</i>	1(%14,3)	-
<i>A. veronii biovar sobria</i>	-	1(%16,6)
TOPLAM	7	6

5. TARTIŞMA

Son yıllarda *A. hydrophila* üzerinde yoğunlaşan ilgiyle beraber bu organizmanın potansiyel kaynakları da araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan bir çok çalışma sonunda bu organizmanın esasen tatlı su çevrelerinin yerli florasına ait bir bakteri olduğu, ancak bu çevrelerin dışında denizlerden, kirli sulardan, çeşitli deniz kabuklularından, balıklardan, etlerden, sebzelerden, çiğ süt ve süt ürünlerinden, gaitadan izole edildiğine dair raporlar mevcuttur(1,75).

Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda gerek artırılmamış doğal su örnekleri gerekse şebeke sularında *Aeromonas* cinsi bakteriler izole edilmiştir(90). Ayrıca yapılan çalışmalarda su örneklerinde ki *Aeromonas* yoğunluklarının ısı, tuzluluk, kirlilik derecesi, sulardaki klorofil(alg) yoğunlukları, suların besin maddeleri yönünden zenginliği ve mevsimlere bağıntılı olarak değiştiği de gösterilmiştir(91-93).

Aeromonas'lar esas olarak soğuk kanlı hayvanlarda hastalık oluşturmakta ve epizoonozlara yol açmaktadır. İnsanlarda her ne kadar salgın bildirilmemiş olsa da giderek artmakta olan veriler gastroenterit etkeni olabileceğini, su içerisinde meydana gelen yaralanmalardan sonra barsak dışı infeksiyonların yanı sıra bağışıklığı bozulmuş kişilerde değişik infeksiyon tablolarına hatta nozokomiyal infeksiyonlara yol açabilecekleri de ifade edilmektedir(94).

Yapılan bazı çalışmalarda içme sularında ki *Aeromonas* yoğunlukları ile gastroenterit olguları arasında korelasyon saptanmış ve bazı ishal olgularında artırılmamış su tüketimi yada bu sularda yüzme öyküsü saptanmıştır. *Aeromonas*'lar balıklarda salgınlara yol açışıyla ekonomik kayıplara yol açabilmeleri yanında kabuklu deniz ürünlerinin tüketiminden sonra besin zehirlenmelerini de yol açabilmektedir(95,98).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün içme suyu standartlarında henüz *Aeromonas* cinsi bakteriler için belli bir ölçü getirilmemiş olmakla beraber Hollanda'da şebeke

sularında dağıtım öncesinde bulunabilecek azami *Aeromonas* miktarı 20/100ml; şebekeye verilmiş sularda ise 200/100ml olarak kabul edilmiştir(97).

Aeromonas'larda yüksek klor direncinin bildirilmesi yanında, bu bakterilerin çok düşük substrat yoğunluklarında, hatta su borularının eklenmesi sırasında kullanılan sabundan suya karışan oleik asit varlığında bile üreyebilmeleri halk sağlığı açısından ne kadar tehlikeli olabileceklerinin bir göstergesi olarak ifade edilmektedir (98).

Aeromonas bakterilerinin laktozdan asit oluşturmaları sebebiyle suların bakteriyolojik incelemeleri sırasında koliform bakterilerle karışabilmeleri de ayrı bir sorundur. Hatta bazı çalışmalarda sulardaki *Aeromonas* yoğunluklarının koliform bakteri sayısını aştığı bildirilmiştir(99).

Yine bazı çalışmalarda *Aeromonas* sayıları ile koliform bakteri sayıları arasında bir ilişki saptanamamış olması bu bakterilerin düşük substrat yoğunluklarında canlılıklarını sürdürmeleri ile açıklanabilir(97).

Alavandi ve ark., Chennai'de içme suyu rezervlerinde hemolitik ve sitotoksik *Aeromonas* türlerinin varlığını araştırmışlardır. Bu çalışmada değişik kaynaklardan alınan su örneklerinin %37,9'unda *Aeromonas spp.* bulmuşlardır. Bu izolatların büyük bir kısmı *A. sobria* (%13,7), *A. caviae* (%11,6) ve *A. hydrophila* (%9,5)'dir. Analiz edilen 37 şehir suyu örneğinin 11'inden *Aeromonas* türleri izole edilmiştir. Bunların 3'ü *A. hydrophila*, 4'ü *A. sobria*, 2'si *A. caviae* ve 2'si *A. jandei*'dir. Kuyu sularından alınan toplam 28 su örneğinin ise 15'inden *Aeromonas spp.* izole edilmiştir. Bunların; 5'i *A. hydrophila*, 6'sı *A. sobria* ve 4'ü *A. caviae* olduğu gösterilmiştir. Chennai'de ticari amaçlı üretilen 30 paket su incelenmiştir. Bunların 10'unda *Aeromonas* türlerinin varlığı saptanmıştır. Paket su örneklerinin, 1'i *A. hydrophila*, 5'i *A. caviae*, 3'ü *A. sobria* ve 1'i *A. veronii* olarak saptanmıştır(100).

Pokhrel ve ark.'nın Tribhuvan Üniversitesi Eğitim Hastanesinde yaptıkları bir araştırmada gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinden ve su örneklerinden *Aeromonas* türlerinin prevalansı incelenmiştir. Toplam 293 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Bu örneklerin 172'si dışkı örneği, 60'ı yara yeri, 20'si vücut sıvıları ve 41'ini su örneği oluşturmuştur. *Aeromonas* türlerinin prevalansı, dışkı örneklerinde

A. hydrophila(%55,5), bunu takiben *A. caviae*(%33,3) ve *A. sobria*(%11,1)'dir. Aynı şekilde yara yerlerinde %3,3 oranında *A. hydrophila* gösterilmiş olup, vücut sıvılarında *Aeromonas* türlerine rastlanmamıştır. Farklı hastanelerden alınan su örneklerinde %58,5 oranında *Aeromonas spp.* izole edilmiştir. Bu çalışmadaki ortak türlerin *A. hydrophila*(%62,5), *A. caviae*(%20,8) ve *A. sobria*(%16,7) olduğu saptanmıştır(101).

Fiorentini ve ark. tarafından, Adriatik Denizi İtalya kıyıları sularında mezofil patojenik *Aeromonas* araştırılmıştır. 1994-Eylül ve 1995-Ağustos arasında Adriatic Denizi'nin İtalya kıyılarında atık su sistemlerinden toplanan toplam 208 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonunda 96 *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. İdentifiye edilen 96 suş (%46,0), *A. caviae*, 46 suş (%22,0) *A. sobria*, 33 suş (%16,0) *A. hydrophila* ve 25 suş (%12,0) *A. veronii* olarak izole edilmiştir. 8 suş (%4,0) ise tiplendirilememiştir. *A. caviae*, en çok, nüfusun yoğun olduğu ve kirlilik derecesinin yüksek olduğu sularda yaygın olarak bulunurken, *A. hydrophila* suşları genellikle temiz sulardan izole edilmiştir. *A. sobria* ve *A. veronii* ise eşit derecede dağılım göstermiştir(102).

Yaz mevsiminde su depolarında *Aeromonas* türlerinin popülasyonlarının artması ile sulardan kaynaklanan infeksiyon oranlarının artması arasında ilişki olduğu bildirilmiştir(103). Ayrıca içme suyu olarak mineral suyun kullanımı, mide lavajı ve radyo opak çözeltiler gibi uygulamalarda steril su kullanımı ile *Aeromonas* türlerinde kaynaklanan septisemi olgularının sayısının azaldığı bildirilmiştir(104).

Ülkemizde gastroenterit etkeni olarak *Aeromonas* suşlarının araştırıldığı çalışmalarda düşük oranda da olsa patojen olarak saptanmış olup, bu sonuçlar Tablo-8'de gösterilmiştir.

Tablo-8: Türkiye’de görülen *Aeromonas* gastroenterit vakalarının yıllara göre dağılımı

Kaynak	Ülke	Yıl	Hedef grup	İzolasyon oranı (%)
Erbaş ve ark. (105)	Türkiye	1989	Gastroenteritli olgular	20,0
Toksöz ve ark. (106)	Türkiye	1992	Gastroenteritli olgular	0,6
Öztürk ve ark. (107)	Türkiye	1994	Gastroenteritli çocuklar	2,7
Kuzucu ve ark. (108)	Türkiye	2000	Gastroenteritli olgular	1,3
Aydoğan ve ark.(109)	Türkiye	2001	Gastroenteritli olgular	2.0
Berktaş ve ark. (110)	Türkiye	2003	Gastroenteritli olgular	3.5

Çalışmamızda, şebeke ve arıtılmadan içilen kaynak suyu olarak incelemeye alınan 70 örneğin 7’sinde (%10,0) Phoneix ve 6’sında (%8,6) Aerokey-II yöntemiyle *Aeromonas* türleri identifiye edilmiştir.

Avustralya’da Burke ve ark. tarafından yapılan çalışmada bir yıl süre ile arıtılmamış içme suyu örneklerinde *Aeromonas* yoğunlukları izlenmiş ve yalnızca iki kez dışında yapılan tüm kültürlerde *Aeromonas* cinsi bakteriler izole edilmiştir (100 ile 150cfu/ml). Ancak bu araştırmacılar yer altı su kaynaklarından aldıkları örneklerde *Aeromonas* sıklık ve yoğunluklarını daha düşük bulmuşlardır (50cfu/ml). Klorlama işleminden sonra aldıkları su örneklerinde koliform ve *E. coli* identifiye edilemezken, 36 örnekte *Aeromonas* cinsi bakteri izole etmişlerdir. Bu su örneklerinde serbest klor miktarı (iki kez hariç; ki klor düzeyinin yüksek olduğu bu örneklerde *Aeromonas* cinsi bakteri ayırlanamamıştır) 3mg/l’nin üzerinde bulunmuştur. Klorlama sonrası çeşitli aşamalardan alınan su örneklerinde klor düzeyi düştükçe klorlama öncesi sayımlara paralel olarak *Aeromonas* sayılarında artma olduğunu gözlemlemişlerdir(14). Çalışmamızda izole edilen *Aeromonas* suşlarının kontrolsüz kaynak sularından izole edilmiş olması dolayısı ile klor kullanımı hakkında bir yorum yapılamamıştır.

Farklı örneklerden de *Aeromonas* izolasyonları yapılmıştır. Alisharli ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Van ilinde tüketime sunulan hazır kıymalarda hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı ve yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla kasap ve marketlerden sağlanan 100’er adet sığır ve koyun kıyması

incelenmiştir. İncelenen sığır kıyma örneklerinin %55'inde *Aeromonas spp.* izole edilmiş olup bunlardan 32'si (%58,18), hareketli *Aeromonas* olarak belirlenmiştir. Bunların 18'i (%56,25) *A. hydrophila*, 6'sı (%18,75) *A. caviae* ve 8'i (%25) *A. sobria* olarak tespit edilmiştir. Koyun kıyma örneklerinin %48'inde *Aeromonas spp.* izole edilmiş olup bunların 26'sı (%54,16) hareketli *Aeromonas* olarak saptanmıştır. Hareketli *Aeromonas*'ların 13'ü (%50) *A. hydrophila*, 6'sı (%23,7) *A. caviae*, ve 7'si (%26,92) *A. sobria* olarak identifiye edilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonuçlarına göre yaptıkları yorumda, Van'da satışa sunulan kıymaların önemli derecede patojen türler olarak kabul edilen hareketli *Aeromonas*'larla kontamine olduğunu ve tüketiciler için önemli bir risk kaynağı oluşturulabileceğini bildirmişlerdir(101).

Çalışmamızda şebeke suyu örneklerinde *Aeromonas* kökenleri bulunmamasına karşın, bölgemizde geleneksel olarak arıtılmadan içilen kaynak sularından ise *Aeromonas* türleri izole edilmiştir. Bu durum dikkat çekmektedir. BD-Phoneix sistemi ile yapılan çalışmalarda, arıtılmadan içilen kaynak suyu örneklerinden elde edilen izolatlar; *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* ve *A. veronii* olarak saptanırken; Aerokey-II yöntemiyle yapılan çalışmalarda, aynı su örneklerinde bu sıralama *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii biovar sobria* olarak gerçekleşmiştir. Bu durum *Aeromonas* türlerinin tanımlanmasında farklı yöntemlerin kullanılmasının izolasyon şansını artırabileceğini vurgulamaktadır. Yetmiş içme suyu örneğinin 63 tanesinden *Aeromonas* cinsi bakteriye rastlanmazken, *Aeromonas* üreyen örneklerde koloni sayımları ml'de 100 ile 1000 arasında değiştiği gözlenmiştir. Özellikle kanalizasyon aracılığı ile kirlenme şüpheli örneklerde (kaynak suları) *Aeromonas* izolatlarının saptanması dikkat çekici bulunmuştur. Kaynak sularında yoğun olarak bulunabilen *Aeromonas*ların şebeke sularında olmamasıda dikkat çekici bir diğer nokta olarak saptanmıştır. Kaynak sularında saptanan *Aeromonas* yoğunlukları özellikle Hollanda'da uygulamaya konulan sınırlar dikkate alındığında bakteri yoğunluğunun insan sağlığını tehdit edebilecek düzeye ulaştığı gözlenmiştir. Konuyla ilgili olarak şebeke suyunun güvenilirliği ile ilgili bilgilendirmeler yapılarak il sağlık komisyonunun harekete geçirilmesi gerekmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar hem yurt dışında hem de ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik

göstermektedir. Konu hakkında mevsimsel dağılım, klor düzeyi ve koliform-*Aeromonas* ilişkisini araştırarak ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Antimikrobiyal duyarlılıklar incelendiğinde, 2006 yılında yapılan bir çalışmaya göre; toplam 55 bitkisel suşun tür analizinde, 26 suşun *A. hydrophila complex* ve 29 suşun *A. caviae complex* olduğu bulunmuştur. Ayrıca çevresel örneklerden izole edilen 55 suş ve 28 klinik suş antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarına alınmıştır. Tüm *Aeromonas* türleri, sefotaksime, seftazidime, imipenem, amikasin, gentamisin, tobramisin, siprofloksasin, sulfametaksazole/trimetoprim ve kloramfenikol'e duyarlı bulunmuştur. Ayrıca incelenen tüm *Aeromonas* klinik suşları imipenem, amikasin, gentamisin, tobramisin, siprofloksasin'e duyarlı bulunmuştur. Klinik suşların geniş ölçüde çeşitli ilaçlara direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. Farklı kaynaklardan izole edilen *Aeromonas*'ların göreceli olarak β -Laktam antibiyotiklere yüksek direnç gösterdiği rapor edilmiştir. Direnç'in genellikle, doğal olarak β -Laktamaz üreten suşların fenotipleri ile korele olduğu gösterilmiştir. Sonuçlardan; tüm suşların %73,5'inde ampisilin/sulbaktam'a direnç, 1. kuşak sefalosporinler'e yüksek, 2. kuşak sefalosporinler'e daha düşük direnç saptanmıştır. 3. kuşak sefalosporinler'e azalmış duyarlılık ve aminoglikozidler'e, florokinolonlar'a ve karbapenemler'e direnç rapor edilmiştir. *Aeromonas*'ın direnç profili karşılaştırılırken, tek bir ilaca direnç, yiyecek suşlarının %65,5'inde gösterilmiş ve %20,0'si en az iki ilaca direnç göstermiştir. Tek bir ilaca direnç klinik suşların %28,6'sında görülürken, çift ilaca direnç %35,8, 3-5 ilaca direnç %25,1 olarak saptanmıştır. ampisilin/sulbaktam ve sefoksitin'e olan kombine direnç *Aeromonas* türleri suşlarında en sık tanımlanan profildir. Tetrasiklin'e ve kloramfenicol ile birlikte diğer antimikrobiyallere olan direnci içeren çeşitli profiller, *Aeromonas* türlerine multiple direnç kazandırmıştır (68).

Özcan ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada *Aeromonas* suşlarının tamamı seftriakson, sefepim, aztreonam, gentamisin, tobramisin, tetrasiklin, ofloksasin, klindamisin, trimetoprim-sulfametaksazol ve sefiksimine duyarlı, buna karşın suşların tamamı ampisilin, karbenisilin ve sefalotine dirençli bulunmuştur(113).

İdentifiye ettiğimiz *Aeromonas* suşlarının CAZ, CTX, CRO, CXM, IPM, CIP ve TİM'e duyarlı olduğu gözlenmiştir. İzolatlardan bir *A. caviae* ve bir *A. veronii* suşunun TZP'ye, bir *A. caviae* suşu CEC'e, bir *A. hydrophila* ve bir *A. caviae* suşu

AMC'ye dirençli olduğu gözlenmiştir. İzole edilen suşlarda çoklu direnç profilinde rastlanmamıştır. *Aeromonas* türlerinin duyarlı olması örneklerimiz klinik, hastane infeksiyonuna yol açan örnekler olmaması kaynaklı olabileceği düşüncesini uyarmıştır. Zira doğada bulunan tüm bakteri türlerinin normal ortamlarında antibiyotiklerle karşılaşma olasılığının düşük olması direnç gelişimini engelleyen en önemli faktörlerden biri olarak gösterilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

Ülkemizde ve yöremizde kullanıma sunulan çok sayıda kaynak suyu vardır. Bu sular halk tarafından lezzetli olduğu gerekçesi ile tercih edilmektedir. Dolayısı ile kaynak suları da neredeyse şebeke suları kadar tüketilmektedir.

Özellikle çocukluk çağı hastalıklarının çoğunun fekal-oral geçişli olduğu unutulmamalı ve bu kapsamda il sağlık komisyonu kaynak sularının sunumu-kullanımı hakkında etkin çalışmalar yapmalıdır.

Bu tip suların rutin kontrollerinde diğer patojen etkenler yanında potansiyel olarak hastalık oluşturabilecek *Aeromonas* türlerinin araştırılması faydalı olacaktır.

Kaynak sularının kullanımı konusunda halk bilinçlendirilmeli ve risklerinden haberdar edilmelidir. Belediyeler kaynak sularının taşınması ve sunulması-kullanımı konusunda iyileştirmeler yapmalıdır.

Kanalizasyon kontaminasyonunun önlenmesi için şebeke sularının düzenli kontrolleri yapılmalı ve sonuçlar halkla paylaşılmalıdır.

Kanalizasyon alt yapısının şehirleşmiş alanların tamamına ulaşması sağlanmalı ve hayvansal atıklar için önlemler alınarak ve gerekiyorsa havyan yetiştiriciliği organize bölgeleri kurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Farmer, J.J., Arduino, M.J. and Hickman-Brenner, F.W., (1992) The Genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In A. Balows et al.(Eds), The Prokaryotes, Springer-Verlag, New York, USA.
2. Abeyta, C. and Wekell, M.M., (1988) Potential Sources of *A. hydrophila*, *J of Food Safety*, 9:11-22
3. Altwegg M. and Geiss H.K., (1989) *Aeromonas* as a Human Pathogen. *CRC Crit Rev Microbiol*, 4:253-286
4. Uzel A., (1996), İzmir İli'ndeki Çeşitli Kaynaklardan *A. hydrophila*'nın İzolasyonu, İdentifikasyonu, ve Toksikolojik Testleri ile İlgili Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji AD.
5. Merino S., Rubires X., Knochel S., Tomas J.M., (1995), Emerging Pathogens: *Aeromonas* spp., *Int J Food Microbiol.*, 28:157-68
6. Brenden R. and Janda J.M., (1987) Detection, Quantation and Stability of the β -hemolysin of *Aeromonas* spp., *J Med Microbiol.*, 24:47-51
7. Monfort P. and Baleux B., (1990) Dynamics of *Aeromonas hydrophila* , *Aeromonas sobria* and *Aeromonas caviae* in a Sewage Treatment Pond, *Applied and Environmental Microbiology*, 56:1999-2006.
8. Freitas A.C., Nunes M.P., Milhomem A.M. and Ricciardi I.D., (1993) Occurance and Characterization of *Aeromonas* species in Pasteurized Milk and Chesees in Rio de Janeiro, *J of Food Protection*, 5:62-65
9. Altwegg M. and Geiss H.K., (1989) *Aeromonas* as a Human Pathogen. *CRC Crit Rev Microbiol*, 4: 252-253
10. Janda J.M. and Duffey P.S.(1988) Mesophilic *Aeromonas* in Human Disease: Current Taxonomy, Laboratory Identification and Infectious Disease Spectrum *Rev Infect Dis*, 5:980-987.
11. Janda M.,(1991) Recent Advances in the Study of the Taxonomy, Pathogenicity and Infectious Syndromes with the genus *Aeromonas*, *Clin Microbil Rev.*, 4:397-410.
12. Popoff M: Genus III *Aeromonas* Kluver and van Niel, 1936-398. İn: Krieg, NR and Holt, JG (ed), (1984) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams&Wilkins Co, Baltimore, USA.

13. Brenden R.A. and Huizanga H.W., (1986) Pathophysiology of Experimental *Aeromonas hydrophila* Infection in Mice. *J Med Microbiol*, 21:311-317.
14. Burke V., Robinson J., Gracey M., Peterson D. and Partridge K, (1984), Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a Metropolitan Water Supply: Seasonal Correlation with Clinical Isolates. *Appl Environ Microbiol*, 2:361-366.
15. Hickman-Brenner F.W., Fanning G.R., Brenner Don J. and Farmer III J.J. (1988) *Aeromonas schubertii*, a New Mannitol-Negative Species Found in Human Clinical Specimens, *J Clin Microbiol*, 8:1561-1564.
16. Midilli K., (1998), İstanbul ve çevresinde toplanan çeşitli su örnekleride *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığı, sıklığı ve biyotip özellikleri, uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
17. Koneman E.W., Allan S.,D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C., J.R, (1992), *Aeromonas ve Plesiomonas*, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.
18. Erdem B., (1999). *Aeromonas ve Plesiomonas*. In: Mutlu G., İmir T., Cengiz A.T., Ustaçelebi Ş., Tümbay E., Mete., (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara
19. Overman T.L., Kessler J. and Sabort J.,P(1985).Comparaison of API 20E, Rapid E, and API Rapid NET for Identification of Members of The Family *Vibrionaceae*. *J Clin Microbiol*, 5:778-781.
20. Abbott S.L., Seli L.S., Catino M.J.R., Hartley M.A., and Janda J.M., Misidentification of Unusal *Aeromonas* species as Members of the genus *Vibrio*: a Continuing Problem. *J. Clin Microbiol*, 1998, 4:1103-1104
21. Carnahan A.M., Behram S. and Joseph S.W., (1991). Aerokey II: A Flexible Key for Identification Clinical *Aeromonas* species. *J Clin Microbiol*, 12: 2843-2849
22. Abbott S.L., Ceung W.K., Kroske-Bystrom S., Malekzadeh T. and Janda J.M., (1992). Identification of *Aeromonas* Strains to The Genospecies Level in The Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol*, 5:262-1266

23. Allen D.A., Austin B. and Colwell R.R., (1983) *Aeromonas media* a new species Isolated from River Water. *Int J Sys Bacteriol*, 3:599-604.
24. Hickman-Brenner F.W., Mac Donald K. L., Steigerwalt A.G., Fannig G.R., Brenner Don J. and Farmer J.J.,(1987) *Aeromonas veronii*, a New Decarboxylase-Positive Species That May Cause Diarrhea *J Clin Microbiol*, 5:900-906.
25. Schubert R.H.W. and Hegazi M., (1988) *Aeromonas eucrenophila* Species nov, *Aeromonas caviae* a Later and Egitimate Synonym of *Aeromonas punctata*. *Zbl Bakteriol Parsitenkd Infektionskr Hyg Abt 1 Reihe A*, 268:34-39.
26. Carnahan A., Fannig G.R. and Joseph S.W., (1991) *Aeromonas jandaei* (Formerlygenospecies DNA Group 9 *A. sobria*), a New Sucrose-Negative species Isolated from Clinical Specimens. *J Clin Microbiol*, 3:560-564.
27. Carnahan A., Chakraborty T., Fannig G.R., Verma D., Ali A., Janda J.M. and Joseph S.W., (1991). *Aeromonas trota* sp nov, an Ampicillin-Susceptible Species Isolated from Clinical Specimens. *J Clin Microbiol*, 6:1206-1210.
28. Janda J.M., Abbott S.L., Khashe S., Kellogg G.H. and Shimada T., (1988), Further Studies on Biochemical Characteristics and Serologic Properties of the Genus *Aeromonas*. *J Clin Microbiol*, 8:1930-1933.
29. Martinez-Murcia A.J., Esteve J., Garay E. and Collins M.D., (1992) *Aeromonas allosaccharophila* sp. nov, a New Mesophilic Member of Genus *Aeromonas*. (Engl.Abstr.) *FEMS Microbiol Lett* , 3:199-205.
30. Abeyta C.J.R., Charles A.K., Wekell M.M., Sullivan J.J and Stelma G.N., (1986), Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak of foodborne illness, *J Food Prot*, 49:643-646.
31. Baylan O., Yılmaz S., (2004), İntestinal ve Ekstraintestinal İnfeksiyonların Bir Etkeni: *Aeromonas*., *Türk Mikrobiol Cem Derg*, 34:262-272
32. Stelma G.N., Johnson C.H.and Spaulding P., (1986), Evidence for the Direct Involvement of β -Hemolysin in *A. hydrophila* Enteropatogenicity, Current Microbiology, USA.
33. Millership S.E., Barer M.R., Tabaqchali S.,(1986). Toxin production by *Aeromonas spp.* from different sources. *Medical Microbiology*, 22:311–314.

34. Holmes P, Niccolls LM, Sartory DP (1996). The ecology of mesophilic *Aeromonas* in the aquatic environment. In: Austin B et al., eds. *The genus Aeromonas*. London, Wiley: 127–150.
35. Burke V et al. (1984b). Isolation of *Aeromonas spp.* from an unchlorinated domestic water supply. *Applied and Environmental Microbiology*, 48:367–370.
36. Krovacek K et al. (1992). Isolation and virulence profiles of *Aeromonas spp.* from different municipal drinking-water supplies in Sweden. *Food Microbiology*, 9:215–222.
37. Kirov SM et al. (1994). Distribution of *Aeromonas hydrophila* hybridization groups and their virulence properties in Australian clinical and environmental strains. *Letters in Applied Microbiology*, 18:71–73.
38. Granum P.E., Sullivan K., Tomas J.M., Ormen O., (1998), Possible Virulans Factors of *Aeromonas spp.* from Food and Water, *FEMS Immunol Med Microbiol*, 21, 131-137.
39. Aslan G., (2005), IV. Ulusal Sindirim Yolu ile Bulaşan İnfeksiyonlar Simpozyumu, Sularla Bulaşan İnfeksiyonlar, Mersin.
40. Merino S, Camprubi S, Tomas JM (1992) Characterization of an O-antigen. bacteriophage from *Aeromonas hydrophila*. *Can J Microbiol* 38:235–240.
41. Notermans S., Havelaar A., Jansen W., Kozaki S. and Guinee P., (1986): Production of Asao Toxin by *Aeromonas* Strains Isolated from Feces and Drinking Water. *J Clin Microbiol*, 4:1140-1442.
42. Stewart G.A., Bundell C.S. and Burke V., (1986):Partial Characterization of a Soluble Haemagglutinin from Human Diarrhoeal Isolates of *Aeromonas*. *J Clin Microbiol*, 21:319-324.
43. Burke V., Robinson J., Berry R.J. and Gracey M., (1981), Detection of Enterotoxins of *Aeromonas hydrophila* by a Suckling-Mouse Test. *J Med Microbiol*, 14:401-408.
44. Gosling P.J.,Turnbull P.C.B., Lightfoot N.F., Pether J.V.S. and Lewis R.J., (1993), Isolation and Purification of *Aeromonas sobria* Cytotoxic Enterotoxin and Beta-Haemolysin, *J Med Microbiol*, 38:227-234

45. Agger W.A., Mc Cormick J. and Gurwith M.J., (1985), Clinical and Microbiological Features of *Aeromonas hydrophila*-Associated Diarrhea. *J Clin Microbiol*, 6:909-913
46. Burke V., Robinson J., Atkinson M.H. and Gtacey M., (1992), Biochemical Characterization of Enterotoxigenic *Aeromonas spp.* *J Clin Microbiol*, 1:48-52
47. Kuijper E.D., Bol P., Peeters M.F., Steigerwalt A. G., Zanen H.C. and Brenner Don (1989), Clinical and Epidemiologic Aspects of Members of *Aeromonas* DNA Hybridization Groups Isolated from Human Feces , *J Clin Microbiol*, 7:1531-1537.
48. Kuijper E.D. and Peeters M.F., (1991), Bacteriological and Clinical Aspects of *Aeromonas*-Associated Diarrhea in Netherlands. *Experientia*, 5:432-434.
49. Majeed K.N. and MacRae I.C., (1994), Cytotoxic and Haemagglutinating Activities of Motile *Aeromonas* species. *J Med Microbiol* , 40:183-191.
50. Namdari H. and Bottone E.J., (1990), Cytotoxin and Enterotoxin Production as Factors Delineating Enteropathogenicity of *Aeromonas caviae*. *J. Microbiol*, 8:1796-1798
51. Singh D.V. and Sanyal S.C., (1993), Haemagglutinating Activity, Serum Sensitivity and Enterotoxigenicity of *Aeromonas spp.* *J Med Microbiol*, 38:49-53
52. Borrego J.J., Morinigo M.A., Martinez-Manzanmares E., Bosca M., Castro D., Barja J.L. and Toranzo A.E., (1991), Plasmid Associated Virulence Properties of Environmental Isolated of *Aeromonas hydrophila*, *J Med Microbiol*, 5:264-269
53. Atkinson H.M. and Trust T.J., (1980), Heamagglutination Properties and Adherens Ability of *Aeromonas hydrophila*, *Infect Immun*, 3: 938-946.
54. Arcos M.L., Vicente A., Morinigo M.A., Romero P. and Borrego J.J., (1988). Evolution of Several Selective Media for Recovery of *Aeromonas hydrophila* from Polluted Waters, *Applied and Enviromental Microbiolgy* 54:2786-2792,.
55. Kooij D.V.D., and Hijnen W.A.M., (1988). Nutritional Versatility and Growth Kinetics of an *Aeromonas hydrophila* Strain Isolated from Drinking Water, *Applied and Environmental Microbiology*, 54:2842-2851.

56. Kooij D.V.D., (1988), Properties of *Aeromonas* and Their Occurrence and Hygienic Significance in Drinking Water, *Zbl Bakt Hyg.*, 187:18-21
57. Abeyta C., Kaysner C.A., Wekwel M.M., Sullivan J.J. and Stelma G.N., (1986) Recovery of *Aeromonas hydrophila* from Oysters Implicated in an Outbreak of Foodborne Illness, *Journal of Food Protection*, 49:643-646.
58. Koehler, J.M. and Ashdown L.R., (1992), Comparison of Transport Media for Recovery of *Aeromonas* from Clinical Specimens, *Letters in Applied Microbiology*, 11:24-27
59. Berrang M.E., Brackett R.E. and Beuchat L.R., (1989) Growth of *Aeromonas hydrophila* on Fresh Vegetables Stored Under a Controlled Atmosphere, *Applied and Environmental Microbiology*, 22:2167-2171
60. Poffe R. and Beeck E.O., (1991), Enumeration of *Aeromonas hydrophila* from Domestic Wastewater Treatment Plants and Surface Waters, *J of Applied Bacteriology*, 71: 366-370
61. Joseph S.W., Carnahan A.M., Brayton P.R., Fanning G.R., Almazan R., Drabic C., Trudo E.W. and Colwell R.R., (1991), *Aeromonas jandai* and *Aeromonas veronii* Dual Infection of a Human Wound following Aquatic Exposure, *J Clin Microbiol*, 3:565-569
62. Voss L.M., Rhides K.H. and Johnson K.A., (1992), Musculoskeletal and Soft Tissue *Aeromonas* Infection: An Environmental Disease, *Mayo Clin Proc*, 67: 422-427
63. Janda J.M., Guthers L.S. and Kokka R.P., (1994), *Aeromonas* species in Septicemia: Laboratory Characteristics and Clinical Observations *CID*, 19: 77-83
64. Doman D.B., Golding M.I., Golberg H.J. and Doyle R.B., (1989), *Aeromonas hydrophila* Colitis Presenting as Medically Refractory Inflammatory Bowel Disease, *Am J Gastroenterol*, 1: 83-85
65. Ferraye F.A., Peppercorn M.A. Ciano P.S. and Kavesh W.N., (1989), Segmental colitis Associated with *Aeromonas hydrophila*, *Am J Gastroenterol*, 4: 436-438
66. Ong K.R., Sordillo E. and Frankel E., (1991), Unusual Case of *Aeromonas hydrophila* Endocarditis, *J Clin Microbiol*, 5:1056-1057

67. Mani S., Sadigh M. and Andriole V., (1995), Clinical Spektrum of *Aeromonas hydrophila* Infections; report of 11 Cases in a Community Hospital and Review, *IDCP*, 4:79-86
68. Palu A.P., Gomes L.M., Miguel M.A.L., Balassiano I.T., Querioz M.L.P., Almeida A.C.F. and Oliveira S.S., (2006), Antimicrobial Resistance in Food and Clinical *Aeromonas* Isolates, *Food Microbiol*, 23:504-509
69. Janda J.M., Bottone E.J., Skinner C.V. and Calcaterra D., (1983), Phenotypic Markers Associated with Gastrointestinal *Aeromonas hydrophila* Isolates from Symptomatic Children, *J Clin Microbiol*, 4: 588-591.
70. Kuijper E.D., Van Alphen L., Peeters M.F. and Brenner D.J., (1990), Human Serum Antibody Response to the Presence of *Aeromonas spp.* In the Intestinal Tract, *J Clin Microbiol*, 3: 585-590
71. Burke V., Cooper M., Robinson J., Gracey M., Lesmana M., Echeverria P. and Janda M., (1984), Hemagglutination Patterns of *Aeromonas spp.* in Relation to Biotype and Source, *J Clin Microbiol*, 1: 39-43.
72. Altwegg M., Jöhl M., (1988), Isolation Frequency of *Aeromonas* species in Relation to Patient Age, *Eur J Clin Microbiol and Infect Dis*, 1: 55-57
73. Siitonen A. and Mattila H., (1990), Effect of Transport Medium on Recovery of *Aeromonas spp.* in Intestinal Infection, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 9: 368-369
74. Bogdavic R., Cobeljic M., Markovic M., Nolic V. and Ognjanovic M., (1991), Haemolytic-Uraemic Syndrom Associated with *Aeromonas hydrophila* Enterocolitis, *Pediatr Nephrol*, 3: 293-295.
75. Nishikawa Y. and Kishi Y., (1988), Isolation and Characterization of Motile *Aeromonas* from Human, Food and Environmental Specimens, *Epidem. Infec.*, 101:213-23.
76. Popoff M., (1984), Vibrionaceae and other Gram negative Facultatively Anaerobic Rods, Edited by, Krieg N.R., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, U.S.A..
77. Morita K., Watanabe N., Kurata S. and Kanamori M., (1994), Beta-Lactam Resistance of Motile *Aeromonas* Isolates from Clinical and Environmental Sources. *Antimicrob Agent Chemother*, 2: 353-355

78. Bakken J.S., Sanders C.C., Clarc R.B.and Hori M., (1988), Beta-Lactam Resistance in *Aeromonas spp.* Caused by Inducible Beta-Lactamases Active against Penicillins, Cephalosporins and Carbapenems. *Antimicrob Agent Chemother*, 9: 1314-1319
79. Felici A.and Amicosante G., (1995), Kinetic Analysis of Substrate Specificity with *Xanthomonas maltophila*, *A.hydrophila* and *Bacillus cereus* Metallo-Beta-Lactamases, *Antimicrob Agent Chemother*, 1: 192-199.
80. Iaconis J.P. and Sanders C.C., (1990), Purification and Characterization of Inducible Beta-Lactamases in *Aeromonas spp.* *Antimicrob Agent Chemother*, 1: 44-51.
81. Vila J., Ruiz J., Gallardo F., Vargas M., Soler L., Figueras M.J., Gascon J., (2003), *Aeromonas spp.*and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis*. 9: 552-555.
82. Topçu W. A., Söyletir G., Doğanay M., (2002), Bakteriyel İnfeksiyonlar, *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyoloji (cilt-2)*,Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri.
83. Bilgehan H.,(2004), Besiyerleri, Ayıraçlar ve Deneyler, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 4. baskı, Ankara, Barış Yayınları*.
84. Carroll K.C., Borek A.P., Burger C., Glanz B., Bhally H., Henciak S.and Flayhart D.C., (2006), Evolution of the BD Phoenix Automated Microbiology System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Staphylococci and Enterococci, *J of Clinical Microbiol*, 44:2072-2077.
85. Tamer A.Ü., Uçar F., Karaboz İ., Bursalıoğlu M.ve Oğultekin R., (1989), Mikrobiyoloji Laboratuar kılavuzu, Eskişehir.
86. Nash P.and Krenz M.M., (1991) Culture media.In: Balows A., Hausler W.J.,Hermann K.L.J., Isenberg H.D., Shadomy H.J (ed.), Manual of Clinical Microbiology 5th ed. *American Society for Microbiology*, Washington DC.
87. Unat E.K., Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi,(1986), İnsanda Hastalık Yapan Bakteriler ve Bunlarla Oluşan İnfeksiyon Hastalıkları, 2.baskı, Dergah Yayınevi, İstanbul.
88. Cunliffe D.A.and Adcock P.,(1989), Isolation of *Aeromonas spp.* from Water by Using. Anaerobic Incubation. *Appl Environ Microbiol*, 9:2138-2140.

89. Difco Manual Tenth Edition, (1984), Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology, Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.
90. Fliermans C.B., Gordon R.W., Hazen T.C. and Esch G.W., (1977), *Aeromonas* Distribution and Survival in Thermally Altered Lake. *Appl Environ Microbiol*, 1:114-122.
91. Hazen T.C., Fliermans C.B., Hirsch R.P. and Esch G.W., (1978), Prevalence and Distribution of *Aeromonas hydrophila* in The United States. *Appl Environ Microbiol*, 5:731-738.
92. Monfort P. and Baleux B., (1991), Distribution of Motile *Aeromonas spp.* in Brackish Water Receiving Sewage Treatment Effluent. *Appl Environ Microbiol*, 57: 2459-2467.
93. Seidler R.J., Allen D.A., Lockman H., Colwell R.R., Joseph S.W. and Daily O.P., (1980), Isolation Enumeration and Characterization of *Aeromonas* from Polluted Waters Encountered in Diving Operations. *Appl Environ Microbiol*, 5: 1010-1018.
94. Holmberg S.D., Schell W.L., Fanning G.R., Wachmuth I.K., Hickman-Brenner F.W., Blake P.A., Brenner Don J. and Farmer III J.J., (1986), *Aeromonas* Intestinal Infections in The United States *Ann Intern Med*, 105: 683-689.
95. Ibrahim A. and Mac Rae I.C., (1991), Incidence of *Aeromonas* and *Listeria spp.* in Red Meat and Milk Samples in Brisbane, Australia (Engl Abstr) *Int J Food Microbiol*, 12: 263-269.
96. Majeed K.N., Egan A.F. and Mac Rae I.C., (1989), Incidence of *Aeromonas* in Samples from Abattoir Processing Lambs. *J Appl Bacteriol*, 67:597-604.
97. Van Der Kooij D., (1988), Properties of *Aeromonas* and their Occurrence and Hygienic Significance in Drinking Water, *Zbl Bakt Hyg B*, 187:1-17.
98. Kelly M.t., Stroh D.E.M. and Jessop J., (1988), Comparison of Blood Agar, Ampicillin Blood Agar, Mac-Conkey-Ampicillin-Tween Agar and Modified Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar for Isolation of *Aeromonas spp.* from Stool Specimen,. *J Clin Microbiol*, 9:1738-1740.

99. Havemeister G.,(1991), Determination of Total Coliform and Faecal Coliform Bacteria from Bathing Water with Fluorocult-Brila-Broth (Engl Abstr) *Acta Microbiol Hung* 38:157-264.
100. Alavandi S.V., Subahisni M.S., Anathan S., (1999), Occurrence of Haemolytic & Cytotoxic *Aeromonas species* in Domestic Water Supplies in Chennai., *Indian J Med Res*, 110:50-55.
101. Pokhrel B.M., Thapa N., (2004), Prevalance of *Aeromonas* in Different Clinical and Water Samples with Special Reference to Gastroenteritidis., *Nepal Med Coll J, Dec*; 6:139-143
102. Fiorentini C., Barbieri E., Falzano L., Matarrese P., Baffone W., Pianetti A., Katouli M., Kuhn I., Moolby R., Bruscolini F., Casiere A.and Doneli G., (1998), Occurrence, Diversty and pathogenic of Mesophilic *Aeromonas* in Estuarine Waters of the Italian Coast of the Adriatic Sea., *J Appl Microbiol*, 3:501-511.
103. Picard B., Goulet P., (1987), seasonal prevalence of nozocomial *Aeromonas hydrophila* infection related to *Aeromonas* in hospital water., *J Hosp. Infect.*, 10:152-155
104. Picard B., Goulet P.,(1987), Epidemiological complexity of hospital "*Aeromonas* infections revealed by electrophoreting typyng of esterases., *Epkdemiol Infect.*, 98:5-14
105. Erbaş O, Acar N, Arısoy B, Oğan MC: (1989). *Aeromonas* spp. İzolasyonunda rutin besiyerlerinin kullanımı, *Ankara Hast Derg* , 24: 121
106. Toksöz D: Pediatrik yaş grubunda bakteriyel gastroenterit olarak *Aeromonas*'ın yeri. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara 1992.
107. Öztürk R, Midilli K, Okyay K ve ark: *Aeromonas* bakterilerinin sürgünlü hastalardaki sıklığı, *Klimik Derg*, 7: 45 (1994).
108. Kuzucu Ç, Acar N, Akan Ö, Karakoç EA: (2000). İntestinal ve ekstraintestinal örneklerde *Aeromonas*'ın izolasyon sıklığı, *Flora* 5: 74-77
109. Aydoğan S, Sünbül M, Leblebicioğlu H, Eroğlu C, Esen Ş: (2001). Akut ishallerde hastalarda *Escherichia coli* O157 ve *Aeromonas* türlerinin sıklığı, *Mikrobiyol Bült* 35:525-529

110. Berktaş M, Korkoca H, Ciftci İH, Guducuoglu H, Bozkurt H, Tuncer O, Kutluay N. (2003). The role of motile *Aeromonas* in cases with acute gastroenteritis and their susceptibilities to antimicrobial agents. *J Turkish Microbiological Society*. 33: 214-218
111. Alisharli M., Gökmen M., (2002), Van İlinde Tüketime Sunulan Kıymalarda Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı, *YYÜ Vt Fak Derg.*, 13:57-61.
112. Özcan İ., Kocabeyoğlu Ö., (1998), *Aeromonas* cinsi bakterilerin dışkı örneklerinden izolasyon sıklığı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, *Gülhane Tıp Derg.*, 40:346-350