

164712

**İÇME, KULLANMA VE PORSUK SULARINDAN
AEROMONAS İZOLASYONU
VE
İDENTİFİKASYONU**

**Filiz DEMİR
Yüksek Lisans Tezi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Haziran - 2002**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Filiz DEMİR'in "İçme, Kullanma ve Porsuk sularından *Aeromonas* İzolasyonu ve İdentifikasyonu" başlıklı Biyoloji Anabilim Dalındaki Yüksek Lisans tezi 18.06.2002 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Merih KIVANÇ

Üye : Doç. Dr. Kıymet GÜVEN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nalan YILMAZ-SARIÖZLÜ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun
~~19.6.2002~~ tarih ve ... 21/5 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Orhan ÖZER
Fen Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

ABSTRACT**Master of Science Thesis****ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *AEROMONAS* FROM DRINK WATER, TAP WATER AND PORSUK RIVER****FİLİZ DEMİR****Anadolu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Program****Supervisor: Prof. Merih KIVANÇ
2002, 63 pages**

Aeromonas specieses, which can be found in aquatic environment, even in mineral water, is a big risk for children, old people and human who have repressed immune system causing various infection especially gastrointestinal infections.

Motile *Aeromonas* specieses cause gastrointestinal ve extraintestinal infections, especially in human. Contaminated water and food are important infection sources. Recently, their important situation gets attention and many study get into isolation and identification studies.

In this study, existence of *Aeromonas spp.* in drinking and tap water, and also in Porsuk River were studied to determine the risk on human health of the existence of these bacteria in Eskişehir.

According to the analysis, the bacteria in drinking water was determined; that %19,44 was *A.hydrophila*, %22,22 was *A.caviae* and %58,33 was not determined.

Top water isolates were %50 *A.hydrophila* and %50 *A.caviae*.

Porsuk River isolates were %13,33 *A.hydrophila*, %36,66 *A.caviae* and %50 was not determined.

It is tought that *Aeromonas* can be found in drinking water is a risk on human health in Eskişehir.

Keywords: *A.hydrophila*, water of *Aeromonas*, drinking water

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminde yardımcı olan, araştırmalarım boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Merih KIVANÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezim boyunca bölümün tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Ahmet ÖZATA'ya, bilgilerinden yararlandığım Doç. Dr. Kıymet GÜVEN ve Yrd. Doç. Dr. Nalan YILMAZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bana maddi ve manevi destek veren tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her türlü fedakarlığa katlanarak beni yetiştiren, bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Aeromonas</i> 'ların Özellikler.....	3
1.1.1. Tarihçe.....	3
1.1.2. Sınıflandırma.....	3
1.1.3. Morfolojileri ve Genel Karakterleri.....	5
1.1.4. Biyokimyasal Karakterleri.....	7
1.1.5. İdentifikasyonu.....	8
1.1.6. Ekoloji ve <i>Aeromonas</i> Enfeksiyonları ile İlişkili Gıdalar.....	11
1.1.7. Patojeniteleri.....	13
1.1.8. Kontrolü.....	13
2. MATERYAL VE METOD.....	15
2.1. MATERYAL.....	15
2.1.1. Örneklerin Toplanması.....	15
2.1.2. Mikroorganizma.....	16
2.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler.....	16
2.1.3.1. GSP-Agar (Merck).....	16
2.1.3.2. Alkali Peptonlu Su (APS).....	17
2.1.3.3. Plate Count Agar (PCA).....	17

2.1.3.4. Nutrient Broth.....	17
2.1.3.5. Nutrient Agar.....	18
2.1.3.6. Laktoz Broth.....	18
2.1.3.7. Tripton Broth.....	18
2.1.3.8. Karbonhidrat Fermantasyon Ortamları.....	19
2.1.3.9. Hugh-Leifson Besiyeri (O/F).....	19
2.1.3.10. MR-VP Broth.....	19
2.1.3.11. Hareketlilik Nitrat Ortamı.....	20
2.1.3.12. Dekarboksilaz Besiyeri (MOELLER).....	20
2.1.3.13. Eskulin Hidrolizasyonu Besiyeri.....	21
2.1.3.14. Tetrametil Para Fenilen Diamin Dihidroklorid Çözeltisi.....	21
2.1.3.15. Metil Kırmızısı İndikatör Çözeltisi.....	21
2.1.3.16. α -Naftol Çözeltisi.....	22
2.1.3.17. KOH Çözeltisi (%40'lık).....	22
2.1.3.18. Kovaks Çözeltisi.....	22
2.1.3.19. İyodür (Lugol) Çözeltisi.....	22
2.1.3.20. Sülfanilik Asit Çözeltisi.....	22
2.1.3.21. Safranin Boyası.....	22
2.1.3.22. Kristal Viyole Boyası.....	23
2.2. METOD.....	24
2.2.1. Koliform Bakterilerin Sayımı.....	24
2.2.2. Toplam Bakteri Sayımı.....	24
2.2.3. <i>Aeromonas</i> İzolasyonu.....	24
2.2.4. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Testleri.....	28
2.2.4.1. Ön Zenginleştirme.....	28
2.2.4.2. Gram Boyama.....	28
2.2.4.3. Sitokrom Oksidaz Üretimi.....	28
2.2.4.4. Katalaz Üretimi.....	29
2.2.4.5. Tuzsuz ve %6 Tuzlu Buyyon'da Üreme.....	29
2.2.4.6. O/F (Oksidasyon-Fermantasyon) Testi.....	29

2.2.4.7. Glikozdan Gaz Oluşturma.....	29
2.2.4.8. Hareketlilik Testi.....	30
2.2.4.9. Karbonhidratların Fermantasyonu.....	30
2.2.4.10. Nitratların İndirgenmesi Testi.....	30
2.2.4.11. Voges Proskauer (VP) Testi.....	31
2.2.4.12. İndol Üretimi.....	31
2.2.4.13. Eskülin Hidrolizi.....	31
2.2.4.14. Ornitin Dekarboksilasyon Testi.....	31
2.2.4.15. Lizin Dekarboksilasyon Testi.....	32
3. BULGULAR.....	33
3.1. <i>Aeromonas</i> 'ların İzolasyonu ve Tanımlanması.....	33
3.2. Toplam Bakteri ve Koliform Bakteri Sayımları.....	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
6. KAYNAKLAR.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1. Çalışmamızda Porsuk Çay'ı üzerinde belirlenen istasyonlar.....	16
3.1. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'nın GSP agardaki görünümü.....	33
3.2. Hareketlilik testi.....	34
3.3. Oksidasyon-Fermentasyon testi.....	35
3.4. Karbonhidrat fermentasyon testleri.....	35
3.5. Eskülin hidrolizasyon testi ve dekarboksilasyon testi.....	36
3.6. Cephalotin'e direnç testi.....	36
3.7. İndol ve Voges-Proskauer testi.....	37
3.8. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'nın mikroskop altındaki görünüşü.....	38
3.9. <i>Aeromonas caviae</i> 'nin mikroskop altındaki görünüşü.....	38
3.10. İçme sularının mahalle ve aylara göre toplam bakteri sayıları.....	48
3.11. Kullanma sularının mahalle ve aylara göre toplam bakteri sayıları.....	49
3.12. Porsuk Çay'ındaki istasyonların aylara göre toplam bakteri sayıları.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. <i>Aeromonas</i> 'ların sınıflandırılması.....	4
1.2. Hareketli ve hareketsiz <i>Aeromonas</i> türlerinin biyokimyasal karakterleri.....	6
2.1. <i>Aeromonas</i> 'ların izolasyonu.....	26
2.2. Hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin identifikasyon testleri.....	27
3.1. İzole edilen bakterilerin identifikasyon test sonuçları.....	42
3.2. İzole edilen bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve identifikasyonda gösterdikleri özellikler.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikro litre
kob/ml	: Mililitrede koloni oluşturan birim
mg/l	: Litredeki miligram
g	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
LD₅₀	: Letal konsantrasyon
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
m³/sn	: Metreküp/ saniye
µm	: Mikrometre
Kgy	: SI birim sisteminde kullanılan Gray (Gy) maddeye 1 J'luk enerji veren ışınım miktarı 1 Gy = 1J/kg = 10 ² rad Kgy = Kilogray = 10 ³ Gy
ppm	: mikrogram/mililitre

1. GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de temiz ve hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması bir sağlık problemi olarak gün geçtikçe önemini arttırmaktadır. Ülkemizde hızla artan nüfus, plansız ve kontrolsüz kentleşme sonucu, artırılmadan doğal sulara karışan atık sular; doğal su kaynaklarında büyük boyutlarda kirlenmeye sebep olmaktadır.

Birçok etken enfeksiyonlara neden olabilirken, büyük salgınların çıkması ve yayılmasında doğal çevre ve özellikle su büyük önem taşımaktadır.

İçme ve kullanma sularında patojen bakteriler, virüsler ve parazitler bulunabilmektedir. Coğrafi konum, alt yapı tesisleri, atık maddelerin gördüğü işlem, toplumun sosyo-ekonomik yapısı gibi birçok faktöre bağlı olarak, patojen bakteriler ve diğer mikroorganizmalar dışkı ve benzeri yollarla sulara ulaşabilmektedir [1,2].

Bakterilerden; *Salmonella spp.*, *Brucella spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Vibrio cholera*, *Yersinia enterocolitica* ve *Fransielia tulurens*, protozoonlardan; *Entamoeba histolitica*, *Giardia intestinalis*, *Blantidium coli* ile enfeksiyöz hepatit, Polio, Cocsaki ve ECHO virüsleri; sularla bulaşan başlıca mikroorganizmalar arasında yer almaktadır [1,2].

Aeromonas türlerinin sağlıklı hayvan popülasyonlarında ve içme sularında bulunması, insanlar için enfeksiyon riski doğurmakla birlikte klorlanmış ve klorlanmamış içme suyu kaynaklarından da izole edilebilmektedir [3,4,5]. Bazı ülkelerde bu nedenle içme suyu standartlarına *Aeromonas*’larla ilgili kriterler konulmasına rağmen ülkemizde bununla ilgili bir kriter bulunmamaktadır. Suyun içilebilirliğini belirlemede koliform grubu bakteriler esas alınmaktadır [6].

Eskişehir’de içme suyu olarak kullanılan kalabak suyunun, şehrin 45 km güneyindeki Türkmen Dağı’nın kuzey yamacındaki kalabak köyü yakınlarındaki, Kaplanlı, Çimenarma, Paşa köşkü ve Su Çıktı olarak isimlendirilen dört ana kaynağı mevcuttur. Suyun %60’ı Kaplanlı kaynağından sağlanmaktadır [7].

Günümüzde şehrin içme suyunun, Eskişehir Büyükşehir Belediyesi Kalabak Suyu Damacana Dolum Tesisleri’nde steril koşullar altında doldurulmuş

damacanalar, bazı semtlerde ise su taşıyan tankerlerle dağıtımı yapılmaktadır [7,8].

Eskişehir merkez ilçesinin kullanma suyu ihtiyacını karşılamakta olup, aynı zamanda tarım alanlarında da sulama suyu olarak kullanılan Porsuk Çayı, Eskişehir ve Kütahya'nın kentsel ve bazı sanayi kuruluşlarının atık sularını alan, 488 km uzunluğunda, ortalama verdisi 10m³/sn olan Sakarya'nın en uzun kolunu oluşturmaktadır [9].

Ülkemizde *Aeromonas*'larla ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Ancak son yıllarda önemleri daha fazla dikkat çektiği için, içme ve kullanma suları [6,10], çiğ ve pastörize süt [3,11], et [12], balık [10], tavuk [13], deniz ürünleri [10], hayvansal rektal içerikler [14] gibi ortamlardan *Aeromonas* izolasyonu ve identifikasyonu konusunda araştırmalar hız kazanmıştır.

Bu araştırmada Eskişehir'de kullanılan içme ve kullanma suları ile Porsuk Çayı'nda *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin varlığının, buna bağlı olarak da halk sağlığı açısından herhangi bir risk oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Aeromonas'ların Özellikleri

1.1.1. Tarihçe

Aeromonas sp.'ler ilk olarak Zimmerman tarafından 1890 yılında, çeşme suyundan izole edilmiş izolata *Bacillus punctatus* adı verilmiştir. Sanarelli 1891 yılında, *B.hydrophilus funcus* olarak isimlendirdiği mikroorganizmayı kurbağalardan; Emmerich ve Weibel, 1894 yılında *B.salmonicida* olarak adlandırdığı etkeni alabalıklardan; Hammer, 1917'de *B.ichtiyosmius* ismini verdiği mikroorganizmayı bozulmuş sütlerden ve Caselitz, *Vibrio jameincensis* olarak tanımladığı mikroorganizmayı da insan septisemi olgularından izole ettiklerini bildirmişlerdir [15,16,17].

Kluyver ve Van Niel tarafından ilk olarak *Aeromonas* ismi önerilmiş, Stainer tarafından 1943 yılında *A.hydrophila* şeklinde isimlendirme yapılmıştır [15,18].

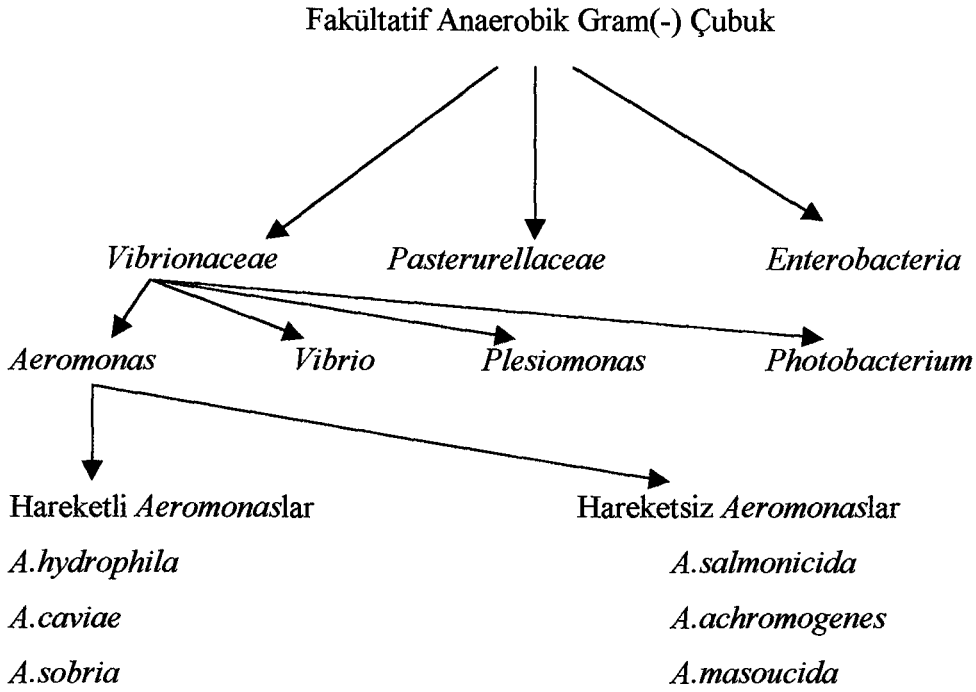
Hill ve arkadaşları tarafından 1954 yılında ilk insan kaynaklı *Aeromonas* suşu, septisemi vakasından izole edilmiştir [16].

Son zamanlarda bazı araştırmacıların, hareketli *Aeromonas*'lar üzerinde yaptıkları ileri çalışmalarda, *A.hydrophila*, *A.sobria*, *A.caviae*'dan başka, sulardan, dışkılarından, gıdalardan ve klinik olgulardan *A.veronii*, *A.trota*, *A. media*, *A.schubertii*, *A.jandaei*, *A.eucronophila*, *A.enteropelogenes*, *A.ichthiosmia* gibi genotipik özellikleri tanımlanmış türler de ortaya çıkmıştır [16,17,19].

1.1.2. Sınıflandırma

Aeromonas'lar *Vibrionaceae* familyasında yer almaktadır. Bu familyada *Aeromonas*, *Vibrio*, *Plesiomonas* ve *Photobacterium* cinsleri bulunmaktadır [15,17].

Bugün *Aeromonaslar* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin (Vol.1,1984) fakültatif anaerobik gram negatif çomaklar seksiyonunda (seksiyon5) *Vibrionaceae* familyasında (familyaII) ve *Aeromonas* cinsi (cinsIII) içinde yer almaktadır [15].

Çizelge 1.1. *Aeromonas*'ların Sınıflandırılması [15]

Aeromonas'lar DNA hibrid gruplarına (genotip) ve fenotiplerine göre sınıflandırılmışlar şu anda en az 7 taxa oluşturulduğu bildirilmektedir. Yapılan son çalışmalara göre *Aeromonas*'ların ayrı bir familya olarak sınıflandırılması görüşü üzerinde durulmaktadır. Bu konuda Colwell ve arkadaşları, *Aeromonas* türlerinin farklı bir ribozomal RNA kolonu oluşturmalarını ve bundan dolayı da ayrı bir familya olarak incelenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar ribozomal RNA-DNA hibridizasyonuna ve 5S rRNA diziliminden elde edilen genetik bilgilere bağlı olarak *Aeromonas*'ların *Aeromonadaceae* olarak ayrı bir familya şeklinde sınıflandırılmaları gerektiğini ileri sürmüşlerdir [15,19].

Şu anda *Aeromonas* genusunun 14 genomik türü ya da DNA hibridizasyon grubu olduğu bildirilmiş fakat henüz isimlendirmeleri tam olarak yapılmamıştır [20].

Hareketli *Aeromonas* izolatlarının tanımlanmasında API 20E, API ZYM, PASCO MID-ID ve MAST-ID gibi bazı hızlı identifikasyon kitleri başarıyla kullanılmış, bu gibi kitlerden alınan sonuçların doğruluk oranı %90'ın üzerine çıkmıştır [21].

İdentifikasyonlarında kullanılan bir başka yöntem serolojik antijenlerin belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır. Hareketli *Aeromonas*larda bugüne dek 12 tane somatik O ve 1 tane flagella H antijeni tespit edilmiştir [21].

PCR yöntemi ile yapılan tanımlama çalışmalarının artmasının, klinik teşhislerde daha faydalı olduğu belirtilmiştir [22].

1.1.3. Morfolojileri ve Biyokimyasal Karakterleri

Aeromonaslar gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, yuvarlak sonlu kokoid görünüştedirler. Aerobik ve fakültatif anaerobik olup, oksidatif ve fermentatif metabolizmaları vardır. *Aeromonas* türlerinin hepsi glukoz'u tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler. *A.hydrophila*, *A.sobria*, *A.caviae* ve *A.salmonicida* olmak üzere dört grupta toplanmaktadırlar. Bu soy aynı zamanda *A.hydrophila*, *A.sobria*, *A.caviae*'yi içeren *A.hydrophila* ile *A.salmonicida* ve alt tiplerini içeren *A.salmonicida* olmak üzere iki grupta da toplanmaktadır. *A.hydrophila* grubu hareketli olup 37°C de üremektedir. *A.salmonicida* grubu ise hareketsiz ve psikrofilik olup 37°C de üreyemez, doğal koşullar altında saprofitiktirler ve özellikle de somon balıkları için patojendirler. *A.hydrophila* grubu ise insan memeli ve kanatlılarda hastalık oluşturabilen hareketli ve mezofilik mikroorganizmalar olup, fenotipik ve genotipik farklılıklarına göre *A.hydrophila*, *A.sobria*, *A.caviae* türlerinden oluşmaktadır. Hareketli *Aeromonas* türleri 1,0-3,5µm uzunluğunda ve 0,3-1,0µm genişliğindedir. Bunlar polar, genellikle monotrik tek bir flagellaya sahiptirler. Bu flagella suşların bir çoğunun genç kültürlerinde peritrik bir karakter göstermektedir. Bu peritrik flagellalar, polar flagellumdan daha kısadır. Logaritmik fazda üreyen bakteriler yalnız polar flagellum göstermektedir. *A.salmonicida* türleri genelde kısa zincirler ve kümeler halinde görülürler. Üreme ortamlarında %2-3 oranında NaCl bulunması bu bakterilerin üremesini olumlu yönde etkilemektedir [11,15,18].

A.salmonicida için optimal üreme ısısı 22-25°C'dir. Çoğu türleri 5°C'de üremektedir. Maksimum üreme ısısı 35°C'dir. Nutrient agarda 22°C de 48 saat inkübe edilen koloniler yuvarlak, kabarık düzgün kenarlı ve yarı şeffaf görünümündedir. *A.salmonicida* suşları %1 tyrosine veya fenilalanin içeren

besiyerinde suda çözünebilen kahverengi pigment oluşturmaktadırlar. Pigment oluşumu aerobik ortamda şekillenmektedir. Kanlı agarda hemoliz yaparlar ve koloniler 7 gün sonra yeşilimsi renk almaktadır [15].

Hareketli *Aeromonas* türleri için optimal üreme ısısı 28°C dir (Maksimum 38-41°C). Nutrient agarda hareketli *Aeromonas* kolonileri yuvarlak, kabarık ve pürüzsüz yüzevidir. Hareketli *Aeromonas* türleri pigment oluşturmamaktadır [15].

Hareketli ve hareketsiz *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal karakterleri Çizelge 1.2'de gösterilmiştir [15].

Çizelge 1.2. Hareketli ve hareketsiz *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal karakterleri [15]

Karakterler	Hareketli <i>Aeromonas</i> Türleri	<i>A.salmonicida</i>
Oksidaz	+	+
Nitratın Nitrite İndirgenmesi	+	+
Lizin Dekarboksilaz	d	d
Ornitin Dekarboksilaz	-	-
Arginin dihidrolaz	+	+
Triptofan ve Fenilalanin deaminaz	-	-
Üreaz	-	-
Nişasta, jelatin, DNA, RNA hidrolizi	+	+
Tween 80 esteraz	+	+
Sitrat (Simmons')	d	-
NaCl'süz peptonlu suda üreme	+	+
ONPG test	+	d
Maltoz, Galaktoz ve Trehaloz'un		
Fermantasyonu	+	+
Sellobioz, Laktoz ve Sorbitol'ün		
Fermantasyonu	d	-
Dulsitol, Ramnoz, İnositol, Ksiloz,		
Rafinoz ve Adanitol'ün Fermantasyonu	-	-
Gliserol'ün Fermantasyonu	d	d
Tetrtiyonat redüktaz	d	-

d, türlere göre değişmektedir.

1.1.4. İdentifikasyonu

A. hydrophila'nın izolasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda çok çeşitli seçici besiyerleri kullanılmış ancak bunlardan hiçbirisi genel olarak bir diğerine göre üstün bulunmamıştır [11].

Aeromonas izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri çok çeşitlidir. Araştırmacılar en fazla, Glutamate Nişasta Fenol Kırmızısı Agar (GSPA), Ampisilin'li Kanlı Agar (AKA), *Aeromonas hydrophila* Agar (AH), Ksiloz Sodyum Desoxycholate Sitrat Agar (XDCA), Nişasta Ampicillin Agar (SAA), Cefsulodin Irganon Novobiosin Agar (CIN), Rimler Shoots Agar (RSA) üzerinde durmaktadırlar [10,16].

Aeromonas'larda ön zenginleştirme amacıyla en çok, alkali peptonlu su, trypticase soy buyyon, tetrathionat buyyon, strontium hidrojen selenit buyyon kullanılmaktadır [10,16].

Uzel ve Uçar [10], DNTA (Ampisilin ve Toluidin Mavi'li DNAaz Agar), AA (*Aeromonas* Agar), RSA (Rimler-Shoots Agar), mA Agar besiyerleri ile yaptıkları *A. hydrophila* izolasyonu çalışmalarında etkili bir izolasyon gerçekleştiremediklerini, buna karşın AMB (*Aeromonas* Medium Base) besiyerinin *A. hydrophila* izolasyonu için kullanımının en uygun olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, zenginleştirme amacıyla; çevresel örnekler için alkali peptonlu su, gıda örnekleri için ise Ampisilin'li Trypticase Soy Broth kullanmışlardır.

Akan ve ark. [14], çiğ sütlerden ve köpeklerin rektal içeriklerinden hareketli *Aeromonas*'ları araştırdıkları çalışmalarında, zenginleştirme amacıyla alkali peptonlu su, *Aeromonas* izolasyonu için ise AKA (Ampisilinli Kanlı Agar) kullandıklarını bildirmişlerdir.

Özbaş ve Aytaç [23], çalışmalarında TS Agar (Triptik Soy Agar) ve BHI Agar (Beyin Kalp Infusion Agar) besiyerlerini kullandıklarını bildirmişlerdir.

Sarımehmetoğlu ve ark. [11], pastörize süttten *Aeromonas*'ların izolasyonu çalışmalarında *Aeromonas* Agar'a 0,1 ml yayma plak yöntemiyle sayım yapamadıklarını ve bu yüzden de Tryptone Soy Broth'da zenginleştirme yaparak çalışmalarını kalitatif olarak yaptıklarını bildirmişlerdir.

1.1.5. *Aeromonas*'ların Bulunduğu Ortamlar

A. hydrophila tatlı su ekosistemlerinin yerli florasına ait olan ve uygun koşullar altında çok hızlı çoğalabilen bir bakteridir. *Aeromonas* cinsi üyeleri aynı zamanda klorlanmış ve klorlanmamış içme suları, kuyu suları, dereler, deniz suları, ham çamur, işlenmiş çamur ve aktif çamur, atık su drenaj sistemleri ve yüzme havuzları gibi sucul çevrelerin yanısıra etlerde, balıklarda, deniz kabuklularında, kümes hayvanlarında, çiğ süt ve süt ürünlerinde, sebzelerde de bulunabilmektedir [10,20,23,24].

Doğada hareketli *Aeromonas* türleri (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*) çeşitli hayvan türlerinde, insanlarda ve sularda yaşayan canlılarda enfeksiyon oluşturabilmektedir [14].

İnsan ve hayvanlardaki hareketli *Aeromonas*'lara bağlı enfeksiyonlarda en büyük bulaşma kaynağının su olduğu bildirilmiştir. İnsandaki gastroenteritis'e neden olan kaynaklar ile ilgili yapılan birçok çalışmada, bakteri bulaşmış sular ile insanlara geçtiği sonucuna varılmıştır [19,24].

Di Giromola ve ark. (1993), *A. hydrophila*'nın özellikle temiz sularda ve düşük kirlilikteki çevrelerde daha çok yaşabildikleri ve çoğalabildiklerini, *A. caviae*'nin ise yüksek fekal kirlilik içeren ortamlarda sık bulunduğunu saptamışlardır [24].

A. hydrophila'nın hem klorlanmış hem de klorlanmamış sularda bulunabilmesi ve buzdolabı sıcaklığında çoğalabilme özelliğinin saptanması nedeniyle gıdalarda sıklıkla aranmaya ve izole edilmeye başlanmıştır [11,15,18,19]. Koliform grubu bakterilerle karşılaştırıldığında klora daha az duyarlı olduğu görülmüştür [18,23].

Özbaş ve Aytaç [23], yaptıkları çalışmalar sonucunda; Türk Standartlarının 266 sayılı İçme Suları Standardı'nda bulunmasına izin verilen en yüksek oranda yani 0.5 ppm klorun, 225×10^4 kob/ml seviyesindeki *A. hydrophila* üzerine 10 dakikalık temas süresinin etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Gürsoy [6], 1993 yılında, Ankara'daki askeri birliklere ait su numunelerinde yaptığı çalışmada 50 numunenin 18'inden hareketli *Aeromonas*

spp. izole etmiştir. İzolatların %55.6'sının *A.hydrophila*, %33.3'ünün *A.sobria*, %11.1'inin *A.caviae* olduğunu bildirmiştir.

Burke ve ark. [26], Avustralya'nın Perth şehrinde bir yıl boyunca farklı örnekleme noktalarından aldıkları şehrin su stoğundaki *Aeromonas* spp.'nin varlığını incelemişlerdir. Dağıtım sistemindeki suyun uluslar arası içme suyu standartlarına uygun olduğunu ancak yüzey sularıyla karşılaştırılabilecek sayıda *Aeromonas* spp. bulduğunu belirtmişlerdir. Su rezervuarlarında yapılan kimyasal işlemler ve klorlama ile *E.coli*'nin tamamen yok olduğunu, *Aeromonas* spp. sayılarında ise azalmaya neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Slade ve ark. [27], 35 adedi şişelenmiş maden suları, 31 adedi de belediyeye ait su kaynaklarından oluşan toplam 139 içme suyu örneğini *A. hydrophila* ve koliformlar yönünden incelemişlerdir. Örneklerin %43'ünde *A. hydrophila*, %11'inde koliformlar, %8'inde ise *A. hydrophila* ve koliform bulmuşlardır. *A. hydrophila* izolatlarının birçoğu farklı markalarda şişelenmiş maden sularından elde edilmiştir. Araştırmacılar, bu su örneklerinden koliform grubu bakteri saptanmadığını bildirmişlerdir.

Biscardi ve ark. [28], İtalya'da 61 şişe maden suyu ve 23 termal su kaynağından alınan örneklerden izole edilen *A.hydrophila* strainlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile aerolizin genlerinin bulunması ve toksijenitelerinin belirlenmesi, biyokimyasal testlerle de izolatların identifikasyonlarının yapıldığını bildirmişlerdir.

Burke ve ark. [25], Avustralya'da yapılan bir araştırmada şehir şebeke suları ile kaynak ve yüzey sularını bir yıl süreyle hem *Aeromonas* hem de *Escherichia coli* açısından incelemişlerdir. Dağıtım sistemindeki suyun uluslar arası standartlara uyduğu ve *E. coli* içermediği halde *Aeromonas* türlerine rastlanıldığını belirtmişlerdir. Yüzey ve kaynak sularında; *E. coli*, koliform bakteriler ve *Aeromonas* saptanırken, klorlama işleminden sonra *E. coli*'nin saptanamadığını, *Aeromonas* sayısında da sadece azalma olduğunu, bunun yanında *Aeromonas* sayısının yaz aylarında maksimuma ulaştığını bildirmişlerdir.

Araujo ve ark. [29], farklı seviyelerde fekal kirlilikteki üç tatlı su ortamında, mezofilik *Aeromonas*'lar ile fekal koliformların arasındaki korelasyonu araştırmışlardır. Sularda *Aeromonas* türlerini 10^2 - 10^9 kob/100ml,

fekal koliformları $9-10^7$ kob/100ml arasında bulmuşlardır. Fekal olarak kirlenmemiş sularda bir korelasyon kuramazken, kirli sularda aeromonaslar, fekal koliformlar ve biyolojik oksijen ihtiyacı (BOD) ile ölçülen organik madde konsantrasyonu arasında önemli bir bağıntı olduğunu tespit etmişlerdir.

Uzel ve Uçar [10], İzmir ilindeki toplam 43 örneği (14 deniz suyu, 5 kuyu suyu, 4 dere suyu, 10 midye ve 10 balık örneği) *A. hydrophila* bakımından incelemişler ve çalışmaları sonucunda 4'ü deniz suyundan, 3'ü midyelerden, 1'i dere suyundan, 1'i de balıklardan olmak üzere 9 izolatu *A. hydrophila* olarak tanımlanmıştır. Bu 9 izolatu 8 tanesinin Süt Emen Fare Deneyi ile enterotoksijenik olduğu da aynı çalışmada bulunmuştur.

Akan ve ark. [3], 80 adet çiğ inek sütünde hareketli *Aeromonas*'ları araştırmışlar, inceledikleri sütlerin 23'ünden (%28,7) hareketli *Aeromonas* türlerini izole etmişlerdir. İzole ettikleri 23 adet suşun, 15'i (%65,3) *A. hydrophila*, 7'si (%30,4) *A. sobria* ve 1'i (%4,3) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. Patojenitelerini belirlemek için yaptıkları Voges Proskauer testinde 19'unun (%82,6), Lizin Dekarboksilaz testinde de 16'sının (%69,5) pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Sarımehtetoğlu ve ark. [11], Ankara'da tüketime sunulan 100 adet pastörize süt örneğini hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı yönünden incelemişlerdir. Analiz edilen örneklerin %19'unun hareketli *Aeromonas*'lar ile kontamine olduklarını tespit etmişler ve izolatların identifikasyonu sonucu %68,4'ünün *A. caviae*, %21,0'ının *A. hydrophila* ve %10,5'inin *A. sobria* olduğunu bulmuşlardır.

Akan ve ark. [14], 117 adet ev köpeğinin rektal içeriklerini hareketli *Aeromonas*'lar yönünden incelemeleri sonucunda; örneklerin dördünden (%3,4) hareketli *Aeromonas* türleri izole etmişlerdir. İzole edilen suşların üçü *A. hydrophila* biri *A. sobria* olarak tanımlanmıştır. Örneklerden *A. caviae* izole edemediklerini bildirmişlerdir.

1.1.6. Patojeniteleri

Çeşitli yara enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, septisemi, endokardit, pnemoni ve osteomyelit gibi bağırsak dışı hastalıklara *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* neden olabildiğinden patojen kabul edilmektedirler [18,19,24,34].

Hareketli *Aeromonas*'lar kurbağalardaki kırmızı bacak (red leg) hastalığının etkeni olarak bilinmekle birlikte sürüngenlerde, balıklarda, salyangozlarda, sığırlarda ve insanlardaki hastalıkların sorumlusu olarak bildirilmektedir [15,18,30].

Birçok ülkede hareketli *Aeromonaslar*, özellikle yaz aylarında, çocuklarda, yaşlılarda ve immun sistemi baskılanmış insanlarda gastroenteritis ile seyreden enfeksiyonların sorumlusu olan mikroorganizmalar olarak bilinmektedirler [31,32].

Yaraların kirli su veya toprakla teması sonucu yara enfeksiyonlarına ve septisemiye neden olan *A. hydrophila* insanlara su kaynaklarından ve gıda maddelerinden bulaşmaktadır. Bunların dışında akut lösemi ve kemik iliği hastalığı olan ve immün sistemleri baskılanmış olan kişilerde de *A. hydrophila* ile kolayca enfekte olabildiği bildirilmektedir [16,31-33].

Bağırsak dışı *Aeromonas* enfeksiyonlarında bağışıklık sistemini bozması nedeniyle ölüm oranının %60'ı geçebildiği bildirilmekle birlikte kontamine gıdanın tüketiminin ardından gastrointestinal sistem ile salgın enfeksiyonlara neden olduğu da düşünülmektedir [19,23].

A. hydrophila'da enterotoksin, sitotoksin ve hemolizin gibi biyolojik olarak aktif ekstrasellüler virülans faktörleri bulunduğu, *A. hydrophila*'nın sitolitik (kolera benzeri) enterotoksin ve sitolitik (sitotoksin) enterotoksin olarak iki farklı enterotoksini olduğu bildirilmektedir [35]. Hareketli *Aeromonas*'lar tarafından bir tanesi 22°C'ta üretilen α -hemolizin, diğeri ise optimum 37°C'ta üretilen β -hemolizin olmak üzere iki farklı hemolizin üretilmektedir. *Aeromonas* türlerinin enterotoksin ve hemolizin üretimleri arasında bir bağıntı bulunmasıyla birlikte enteropatojenitelerinin de sitotoksik enterotoksinleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [10].

Hücre dışına salgılanan, ısıya dayanıksız (60°C, 2 dakika), mol ağırlığı 15000 dalton, izoelektrik noktası 4,2-4,6 olan sitotonik enterotoksinin varlığı ilk kez Ljungh ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuştur. Tavşan ve ratlarda mukozal zarara neden olmaksızın intestinal sıvı sekresyonuna neden olduğu, biyolojik aktivite olarak kolera toksini (CT) veya *E. coli* 'nin ısıya dirençli toksinine (LT) benzediği, nötralizasyon testlerinin, *Aeromonas* enterotoksinini, CT ve LT arasında immünolojik ilişkiyi açıklamada yetersiz olduğunun bildirilmesi sitotoksinin hemolizinden farklı olduğunu göstermiştir. Bu toksinin *Aeromonas* toksininin tesbitinde kullanılan Süt Emen Fare (Suckling Mouse Assay) testine pozitif reaksiyon verdiği bildirilmiştir [19,30].

Stelme, tarafından tanımlanan sitotoksik enterotoksinin ise mol ağırlığının 50000 dalton, izoelektrik noktasının 5.43-5.48 olduğu bu sitotoksik enterotoksin 56°C'de 10 dakikada inaktive olduğu ve tavşan ileal lob testinde sıvı birikimine neden olduğunu bildirilmiştir [19].

Aeromonas'ların neden oldukları diyare tipinin *E. coli* 'nin neden olduğu diyare'ye göre farklı olduğu ileri sürülmektedir. *Aeromonas*'ların neden oldukları diyare; enterotoksijenik türlerin oluşturdukları diyare ve enteroinvaziv türlerin oluşturdukları diyare olarak ikiye ayrılabilir. Enteroinvaziv türlerin oluşturdukları diyarenin hastalarda alt karın bölgesi kramplarına, düşük ateşe ve dışkıda lökositlere neden olduğu bildirilmiştir. Bu tip diyarelerin enteroinvaziv *E. coli* 'nin neden olduğu enfeksiyona benzer olduğu ileri sürülmektedir [19].

α - hemolizinlerin enfeksiyon patojenitesinde muhtemelen çok az bir önemi olduğu, protein yapısında (mol ağırlığı 65.000), ısıya dayanıksız (56°C, 10 dakika) ve tripsin gibi proteolitik enzimlerle inaktive olabilen alfa-hemolizinlerin eritrositlerin lize olmasına neden olduğu ve çeşitli hücrelerde geri dönüşümlü sitotoksik değişikliklere yol açabildiği bildirilmektedir [19].

Aeromonas beta-hemolizini ilk kez Bernheimer ve Avige isimli araştırmacılar tarafından saflaştırılmıştır, tanımlanmış ve 'aerolizin' olarak isimlendirilmiştir. Bir çok canlıda sitotoksik etki yapan bu hemolizin Asaotoksin olarak da bilinmektedir (LD₅₀: 0,4 µg). Bu tip hemolizinlerde proteolitik enzimlerin etkisi yoktur. β -hemolizin ısıya dirençli olmayıp 56°C'de 10 dakikada inaktive olabilmektedir. Farklı gruplar tarafından farklı mol ağırlıklarında birden

fazla beta hemolizinin sitotoksik oluşturulduğu ve beta-hemolizinin sitotoksik olduğu ileri sürülmektedir [19,36].

1.1.7. Diğer Virulanslık Faktörleri

Gastrointestinal sistemin epitel hücrelerini tutabilen, eriyebilir hemagglutini de içeren birkaç farklı hemagglutinasyon mekanizması, *Vibrio cholerae*, *E.coli* veya *Shigella* türleri gibi diğer enteropatojenik türlerde olduğu gibi *Aeromonas*'larda da tespit edilmiştir. Bazı türlerde Hep-2 hücreleri yöntemi kullanılarak invaziv özellikleri gösterilmiştir. Sitotoksin oluşumu ile pozitif Lizin Dekarboksilaz veya pozitif Voges-Proskauer testi arasında bir korelasyon bulunmuştur [19].

A.hydrophila ve *A. caviae*'nin patojenitesinden tam olarak sorumlu faktörler olarak sitotoksin, enterotoksin, invazivite ve adhesinler kabul edilmektedirler. Ancak klinik olaylarda bu virulanslık faktörlerine genellikle rastlanmadığı bunun sebebinin ise yaş, cinsiyet gibi faktörler olabileceği bildirilmiştir [19].

Voges-Proskauer (+), Arabinoz (-), Lizin Dekarboksilaz (+) olan, 43°C'de üreyebilen ve büyük miktarlarda hemolizin oluşturabilen türlerin enterotoksin oluşturdukları belirtilmişler ve yaptıkları çalışmada *A.sobria*'nın *A.hydrophila*'ya göre daha enterotoksijenik olduğunu da bildirmişlerdir [19].

Hemolizin önemli bir virulanslık faktörü olarak kabul edilmekle birlikte, sitotoksinin virulanslıkla ilgili olmadığı belirtilmektedir [26].

1.1.8. Kontrolü

Aeromonas'ların pH 6'nın altındaki pH değerlerine karşı duyarlı oldukları, bu sebeple de doğal, asidik veya asitlendirilmiş gıdalar veya karbonatlı kaynak sularında problem yaratmalarının mümkün olmadığı bildirilmektedir [19].

Karbondioksit'in *Aeromonas*lar üzerinde özel bir inhibitör etkiye sahip olduğu, 30°C'de lag döneminde uzamaya yol açtığı, 5°C'de ise sayıda azalmaya

yol açtığı, tam aksine azot'un 5°C'de hasara uğramış ve uğramamış tüm hücrelerde üremeyi teşvik ettiği belirtilmektedir [19].

1.4-2.2 Kgy düzeyindeki iyonize ışınlamaya karşı *Aeromonas*'ların duyarlı oldukları bildirilmiştir. 3 Kgy'lik ışınlama dozunun taze gıdalarda bu bakterinin inhibe edilmesi için yeterli olduğu belirtilmektedir [19].

Palumbo ve Buchanan, kültür ortamında sıcaklığın azalması sonucunda *A. hydrophila*'nın sodyum klorür ve pH'ya karşı olan direncinin azaldığını bildirmişlerdir. Farklı pH ve sodyum klorür içeren domuz etlerinde yapılan çalışmada pH'daki küçük değişikliklerin bakterinin sodyum klorüre olan toleransını büyük ölçüde etkilediğini belirtmişlerdir. %2 sodyum klorür ve pH 5.9'da bakteri inhibe edilebilirken, pH 6.1'de ancak %3 sodyum klorür içeren ortamda inhibe edilebileceği görülmüştür. Buna göre pH 6.0'nın altındaki pH derecelerinde bakterinin duyarlı olduğu bildirilmektedir [19].

NaCl'nin %2,5'lük konsantrasyonda besiyerine eklenmesi 4°C veya 28°C'de üremeye etkisi azken, %4,5'lük NaCl eklenmesi 4°C'de 14 günden daha fazla çoğalmayı inhibe ettiği, %5'lik NaCl konsantrasyonunun ise tam inhibasyon sağladığını, 2 strain'de 28°C'de %6'luk NaCl ortamında çoğalma görüldüğü bildirilmiştir [18].

Miranda ve Castillo [37], Şili'de yaptıkları çalışmada 56 lağım suyu, 60 sulama suyu, 56 içme suyu kaynağının stoklarında bulunan 172 hareketli *Aeromonas* izolatının bazı antibiyotiklere ve ağır metallerle olan dirençlerini agar difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleriyle araştırmışlardır. İzolatların krom, nalidiksik asit, tetrasiklin, gentamisin, kanomisin ve kloramfenikole karşı duyarlı, kadmium, sefadin, streptomisin ve eritromisin'e karşı dirençli olduklarını, su kaynaklarında kolaylıkla bulunabilen *Aeromonas*'ların antibiyotiklere ve ağır metallerle gösterdikleri direncin halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu bildirmişlerdir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada 1996-1997 yılları arasında Eskişehir'deki 12 ayrı semtten alınan içme ve kullanma suları ile Porsuk Çayı'nın belirlenen 12 ayrı istasyonundan alınan toplam 432 adet su örneği incelenmiştir.

Su örnekleri, metal kapaklarla ağız sıkıca kapanabilen 250ml'lik steril cam şişelerle alınmış ve buz çantası içinde laboratuvara getirilmiştir. Aynı gün içerisinde bakteriyolojik yönden incelemeye alınmıştır.

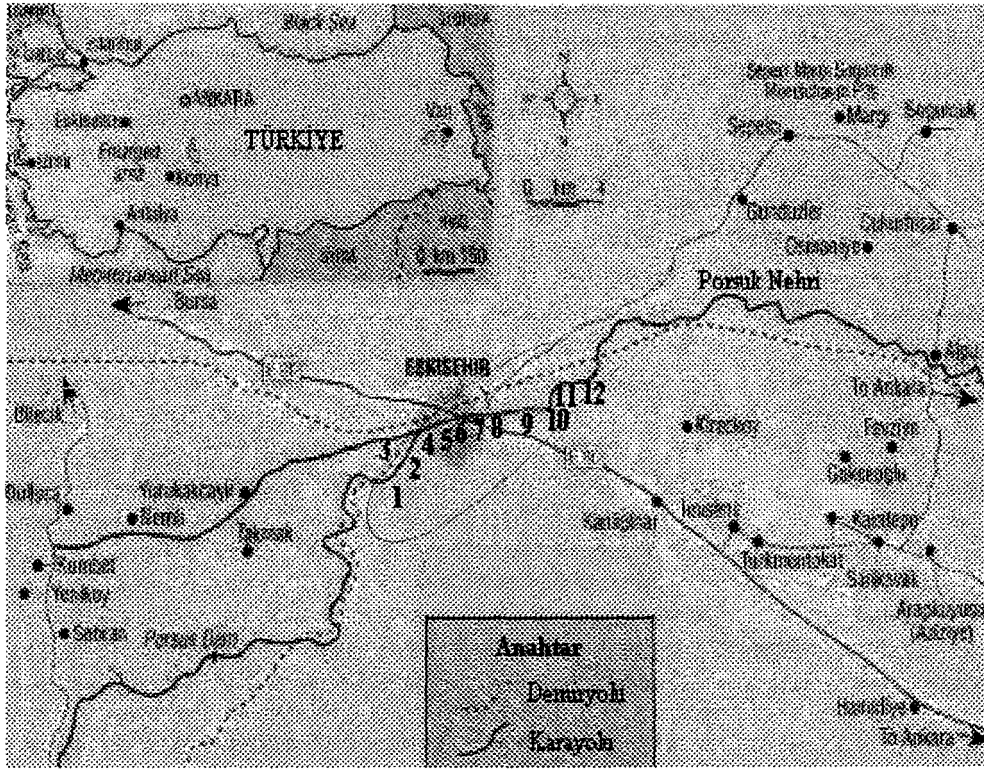
Eskişehir'de Sütlüce, Yenikent, Yunuskent, Tepebaşı, Alanönü, Gökmeydan, Deliklitaş, Akarbaşı, Vişnelik, Ertuğrul Gazi, Sazova mahalleleri ile Anadolu Üniversitesi olmak üzere toplam oniki semtten oniki ay süreyle içme ve kullanma suları örnekleri alınmıştır.

Musluklardan örnek alınırken, maşaya pamuk sarılıp, üzerine alkol dökülüp yakılmış, örnek alınacak çeşmenin ağız flambe edilmiştir. Çeşme açılmış, 5 dakika kadar akıtılarak bağlı bulunduğu boru hattı temizlenmiştir. Akmakta olan çeşmeden şişeye su doldurulmuş ve şişe içerisinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek kapağı sıkıca kapatılmıştır.

İçme sularından örnek alınırken damacanelerin yeni açılmış olmasına, damacanaya geçmemiş semtlerde suyun su kabına yeni doldurulmuş olmasına dikkat edilmiştir.

Porsuk Çayı'ndan, Fidanlık (1), Regülatör (2), Sarısu (3), Tülomsaş (4), Baksan (5), Merkez (6), Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü (7), Bent (8), Şeker Fabrikası önü (9), Devlet Hastanesi önü (10), Mezbaha (11), Organize Sanayii (12) olmak üzere toplam 12 istasyondan (Şekil 1.1) 12 ay süreyle örnek alınmıştır.

Porsuk Çayı'ndan örnek alımında sicime bağlı şişe numune alınacak yere sarkıtılarak ve suya daldırılmak suretiyle örnek alınmıştır. Şişenin tam dolması için, şişe su içindeyken birkaç defa hafifçe aşağı-yukarı hareket ettirilmiştir. İp çekilerek şişe çıkarılmış ve kapağı sıkıca kapatılmıştır.



Şekil 1.1. Çalışmamızda Porsuk Çay'ı üzerinde belirlenen istasyonlar

2.1.2. Mikroorganizma

Sulardan *Aeromonas*'ların izolasyonundan sonraki identifikasyon çalışmalarında United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service Midwest Area National Center for Agriculture Utilization Research, 1815 North University Street Peoria, Illinois 61604'den sağlanan *Aeromonas caviae* NRRC-207 suşu ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinden sağlanan *Aeromonas hydrophila* suşu standart olarak kullanılmıştır.

2.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

2.1.3.1. GSP-Agar (Merck)

SodyumL(+) Glutomat	10,0 g/l
Eriyebilir Nişasta	20,0 g/l

Potasyum dihidrojen fosfat	2,0 g/l
Magnezyum sülfat	0,5 g/l
Fenol red	0,36 g/l
Agar agar	12,0 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri 45g/l oranında hazırlanmış pH' sı 7,2'ye ayarlanıp, 121°C' de 15 dakika sterilize edildikten sonra +4°C' de muhafaza edilmiştir [10,16].

2.1.3.2. Alkali Peptonlu Su (APS)

Pepton	5,0 g
Distile su	1000 ml

pH NaOH ile 8,4'e ayarlandıktan sonra tüplere 10'ar ml aktararak 121°C' de 15 dakika sterilize edildikten sonra +4°C' de saklanmıştır [6].

2.1.3.3. Plate Count Agar (PCA)

Tripton	5,0 g
Yeast ekstrakt	2,5 g
Dekstroz	1,0 g
Agar	15,0 g
Distile su	1000 ml

PH 7,0'e ayarlanıp, 121°C' de 15 dakika sterilize edilerek kullanılmıştır [38].

2.1.3.4. Nutrient Broth

Beef Ekstrakt	5,0 g
Pepton	3,0 g

Distile su 1000 ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmış, tüplere dağıtılıp 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra +4 °C de saklanmıştır [38].

2.1.3.5. Nutrient Agar

Beef Ekstrakt 3,0 g
 Pepton 5,0 g
 Agar 15,0 g
 Distile su 1000 ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmış, 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra kullanılmıştır [38].

2.1.3.6. Laktoz Broth

	Tek kuvvetli	Çift kuvvetli
Pepton	2,5 g	5,0 g
Laktoz	2,5 g	5,0 g
Et ekstresi	1,5 g	3,0 g
Fenol red	0,012 g	0,024 g
Distile su	500ml	500ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 6.9'a ayarlanmış, tüplere 10'ar ml aktarılıp içlerine durham tüpü atıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir [38].

2.1.3.7. Tripton Broth

Tripton 3,0 g/l
 NaCl 0,3 g/l
 Distile su 1000 ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmıştır. Tüplere dağıtılan besiyeri 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra +4°C'de saklanmıştır [38].

2.1.3.8. Karbonhidrat Fermantasyon Ortamları

Karbonhidrat fermantasyon deneylerinde glukoz, sukroz, mannital, arabinoz ve salisin kullanılmıştır. Karbonhidrat solusyonları son konsantrasyonu %1 olacak şekilde ilave edilmiştir. Ortam olarak Nutrient Broth kullanılmıştır. Şeker çözeltileri filtreden geçilerek sterilize edilmiştir. Fenol red (%0,01) indikatör olarak kullanılmıştır [38,39].

2.1.3.9. Hugh- Leifson Besiyeri (0/F)

Peptone	2,0 g/l
NaCl	5,0 g/l
K ₂ HPO ₄	0,3 g/l
Agar	3,0 g/l
Brom thymol blue (%0,2)	15ml
Distile su	1000ml

Hazırlanan besiyeri sıcak su banyosunda eritildikten sonra pH'si 7,4'e ayarlanmış ve besiyeri tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Ortaklavdan çıkarıldıktan ve ısısı 55°C'ye düşürüldükten sonra önceden hazırlanmış ve filtrasyon yöntemiyle sterilize edilmiş glukozdan %1 (son konsantrasyon) olacak şekilde ilave edilmiştir [39].

2.1.3.10. MR-VP Broth

Tamponlanmış pepton	7,0 g
Glukoz	5,0 g
K ₂ HPO ₄	5,0 g

Distile su	1000 ml
------------	---------

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmış, tüplere dağıtılan besiyeri 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra +4°C'de saklanmıştır [38].

2.1.3.11. Hareketlilik Nitrat Ortamı

Et ekstrakt	3,0 g
Pepton	5,0 g
Sodyum nitrat	1,0 g
Gliserol	5 ml
Galaktoz	5,0 g
Agar	3,0 g
Distile su	995 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözülerek ısıtılmış ve tüplere aktarılarak pH 7,0'ye ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır [40].

2.1.3.12. Dekarboksilaz Besiyeri (MOELLER)

Pepton	5,0 g
Et ekstresi	5,0 g
Bromkrezol moru	0,01 g
Krezol kırmızısı	0,005 g
Glukoz	0,5 g
Distile su	1000 ml

Amino asitlerin (L-şekilleri) son konsantrasyonu %1 olacak şekilde ilave edilmiştir. Tüplere 3-5ml olacak şekilde dağıtılarak otoklavda (121°C de 10

dakika) steril edilmiştir. Ekim yapılan besiyerinin üzerine 4-5cm yüksek bir tabaka oluşturacak şekilde steril sıvı parafin ilave edilmiştir [39].

2.1.3.13. Eskulin Hidrolizasyonu Besiyeri

Pepton	10,0 g
Sodyum sitrat	1,0 g
eskulin	1,0 g
demir (III)sitrat	0,05 g
Distile su	1000ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmış tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır [41].

2.1.3.14. Eosin Metilen Blue (EMB) Agar

Pepton	1,0 g
Laktoz	0,5 g
Sakkaroz	0,5 g
K ₂ HPO ₄	0,2 g
Eosin-Y	0,04 g
Metilen mavisi	0,0065 g
Agar	1,5 g
Distile su	100 ml

Formüle göre hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,0'a ayarlanmış 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır [38].

2.1.3.15. Tetrametil Para Fenilen Diamin Dihidroklorid Çözeltisi

1 gram tetrametil para fenilen diamin dihidroklorid, 10ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır [38].

2.1.3.16. Metil Kırmızısı İndikatör Çözeltisi

0,1 gram metil kırmızısı 250 ml %95'lik etanolde çözülüp, üzerine 250 ml distile su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra filtre kağıdından süzülerek kullanılmıştır [38].

2.1.3.17. α -Naftol Çözeltisi

5 gram α -naftol, 100ml %95'lik etanolde çözülerek hazırlanmıştır [38].

2.1.3.18. KOH Çözeltisi (%40'luk)

40 gram KOH, 75 ml distile suda çözülerek çözelti oda sıcaklığında bir süre bekletilmiştir. Daha sonra 0,3 gram kreatin ilave edilerek iyice çözüldükten sonra, distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır [38].

2.1.3.19. Kovaks Çözeltisi

5 gram para-dimetil amino benzaldehit 75 ml butil alkolde çözülerek su banyosunda hafifçe ısıtılmıştır. Tamamen çözüldükten sonra 25 ml HCl (%37'lik) dikkatlice ilave edilerek karıştırılmıştır [38].

2.1.3.20. İyodür (Lugol) Çözeltisi

1 gram iyot ve 2 gram KI havanda iyice karıştırılarak toz haline getirilmiş ve üzerine yavaş yavaş 300 ml distile su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır [38].

2.1.3.21. Sülfanilik Asit Çözeltisi

294 ml glasiyal asetik asit, 706 ml distile suya ilave edilerek karıştırılmış ve 8 gram sülfanilik asit ilave edilerek iyice karıştırılmıştır [38].

2.1.3.22. Safranin Boyası

0,25 gram safranin 10ml etanolde (%95'lik) çözümlenerek, distile su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve iyice karıştırılarak filtre kağıdından süzümüştür [38].

2.1.3.23. Kristal Viyole Boyası

20 ml etanolde (%95'lik) 2 gram kristal viyole çözümlenmiş ve 80 ml distile suda 0,8 gram amonyum oksalat çözümlenerek, bu çözelti alkolde çözümlenmiş olan kristal viyole'ye ilave edilmiştir [38].

2.2. METOD

2.2.1. Koliform Bakterilerin Sayımı

Alınan su örneklerinde koliform bakterilerin sayımı en muhtemel sayı (EMS) yöntemi kullanılarak yapılmıştır [38]. Su örneğinden, tek kuvvetli laktoz broth tüplerinin üç tanesine 1ml, üç tanesine 0.1ml, çift kuvvetli laktoz broth tüplerinin üç tanesine 10 ml aşılacaktır. Ekim yapıldıktan sonra, bütün tüpler 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra, tüplerdeki bulanıklık, renk değişimi ve durham tüplerinde gaz birikimi gibi özellikler kaydedilerek 10 ml'de en muhtemel sayı tablosundan koliform bakteri sayıları hesaplanmıştır. EMB Agar'a ekim yapılarak doğrulama testi yapılmıştır.

2.2.2. Toplam Bakteri Sayımı

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinden 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} oranlarında seyreltmeler yapılarak, diğer su örneklerinden ise genel olarak seyreltme yapılmadan PCA dökme plak yöntemi ile çift paralel ekimler yapılmıştır. Petriler inkübasyon için 30°C'de 48 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda toplam bakteri sayımları yapılmıştır [38].

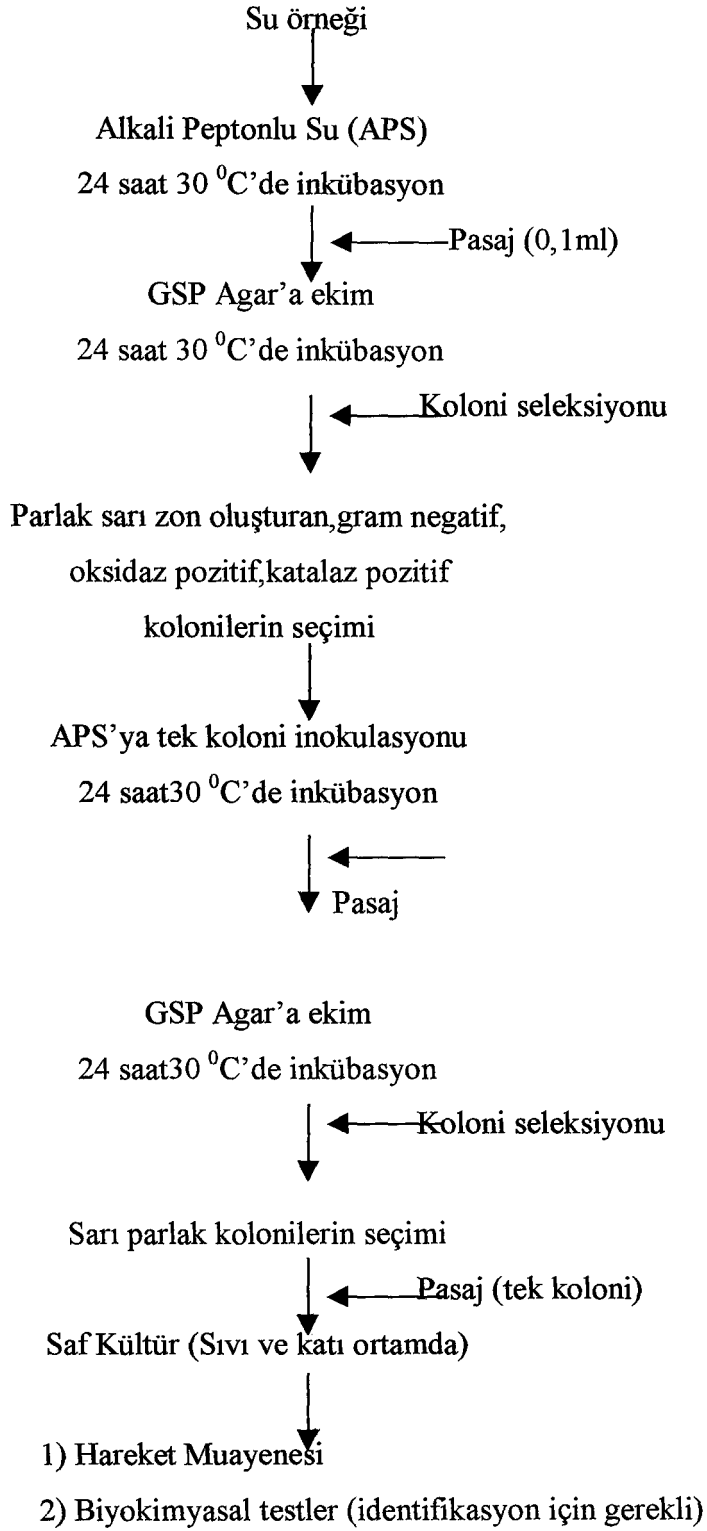
2.2.3. *Aeromonas* İzolasyonu

Aeromonas izolasyonu için su örneğinden 1ml alınarak ön zenginleştirme amaçlı alkali peptonlu suya inoküle edilmiş 24 saat 30°C'de inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda GSP agar'a 0,1ml pasajlanmıştır. 24 saat 30°C'de inkübasyondan sonra parlak sarı olan koloniler seçilmiş, gram boyamaları ve oksidaz testleri yapılmıştır. Oksidaz pozitif, gram negatif olan kolonilerden APS'a tek koloni inkübasyonu yapılmıştır. 30°C'de inkübasyon sonrası GSP agar'a ekilmiş ve parlak sarı koloniler seçilerek tek koloni inkübasyonu ile saf kültür elde edilmiştir. Bu kültürler identifikasyon için biyokimyasal testlere alınmıştır.

GSP agardan seçilen koloniler *Aeromonas* şüpheli kabul edilmiştir. Şüpheli kolonilere gram boyama, oksidaz, katalaz, O/F (Oksidasyon-Fermentasyon), O/129'lu (2,4 – diamino – 6,7 –diisopropylpteridine phosphate) buyyonda üreme, %6 NaCl içeren Nutrient buyyonda üreme testleri yapılmıştır. Test sonuçları, %6 NaCl içeren Nutrient buyyonda üreme ve gram boyama negatif, diğer test sonuçları pozitif çıkan koloniler *Aeromonas* olarak tanımlanmıştır. *Aeromonas* olarak tanımlanan suşlar hareket testi yapılarak hareketli ve hareketsiz olarak ayrılmışlardır [3,15].

Tür düzeyinde tanımlama yapabilmek için eskülin hidrolizasyonu, glukozdan gaz oluşumu, sukroz, mannitol, arabinoz ve salisin fermentasyonu, indol testi, voges-proskauer testi, sephalotine direnç (30µg) testleri yapılmıştır [3].

Çizelge 2.1. *Aeromonas*'ların izolasyonu



Testler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. caviae</i>
Katalaz	+	+	+
Oksidaz	+	+	+
Hareket	+	+	+
Morfoloji	Tekli ve çiftli çomak	Tekli ve çiftli çomak	Tekli ve çiftli çomak
Nutrient Buyyonda Üreme	+	+	+
Tuzsuz Buyyonda Üreme	+	+	+
%6 NaCl Buyyonda Üreme	-	-	-
37°C Nutrient Buyyonda Üreme			
O/129 Dirençliliği*	+	+	+
Oksidasyon Fermantasyon	Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif
Mannitol Fermantasyonu	+	+	+
Eskülin Hidrolizi	+	-	+
Arabinoz Fermantasyonu	+	-	+
Salisin Fermantasyonu	+	-	+
Sukroz Fermantasyonu	+	+	+
Glukozdan gaz	+	+	-
Sisteinden H ₂ S	+	+	-
İndol	+	+	+
Voges-proskauer	+	d	-
Sefalotin'e Direnç(30µg)	R	S	R

*2-4 diamino 6-7 diisoprophyl pteridine

Çizelge 2.2. Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İdentifikasyon Testleri [15]

2.2.4. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Testleri

2.2.4.1. Ön Zenginleştirme

Su örneklerindeki *Aeromonas*'ların ön zenginleştirilmesi için alkali peptonlu su'ya 1ml su örneği aşılanmıştır, 30°C'de 24 saat inkube edilmiştir. Zenginleştirmeden sonra GSP agar'a ekim yapılmıştır. İnkubasyon sonunda parlak sarı renkli koloniler *Aeromonas* olarak seçilmiştir [6].

2.2.4.2. Gram Boyama

İzole edilen bakteriler ile lam üzerine birer preparat hazırlanarak gram boyama yapılmıştır. Havada kuruyan preparatlar üç kez alevden geçirilerek tespit edilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Preparatlar kristal viyole ile mikrobiyal film kaplanacak şekilde örtülerek bir dakika bekletilmiştir. Fazla boya akıtılarak preparatlar lugol çözeltisiyle örtülmüş bir dakika ekletilmiştir. Fazla lugol akıtılarak. Alkol (%95'lik) ile kısa süre (6 sn) muamele edilmiştir. Suyu yıkanarak alkol uzaklaştırılmıştır. Son olarak preparatların üzeri safranin ile kaplanarak 30sn bekletilmiştir. Fazla boya akıtılarak, suyla yıkanmış ve tüy bırakmayan kurutma kağıdıyla hafif kurulanmıştır. Havada iyice kuruduktan sonra immersiyon yağı objektifi yardımı ile incelenmiştir.

Boyanmış olan preparatlarda gram(+) olan mikroorganizmalar koyu mor renkli, gram(-) olanlar ise açık pembe renkli görünmüşlerdir [38].

2.2.4.3. Sitokram Oksidaz Üretimi

Nütrient agar petrilere izole edilen bakterilerin her biri ayrı ayrı inoküle edilmiştir. 30°C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra petriler üzerine tetra metil p-fenilen diamin dihidroklorid çözeltisinden damlatılmış ve değişimler incelenmiştir.

Kolonilerde morumsu mavi bir renk görülmesi sitokrom oksidaz varlığını göstermiştir [39].

2.2.4.4. Katalaz Üretimi

İzole edilen bakterilerin Nutrient agardaki 24 saatlik kültürleri üzerine H₂O₂ damlatılarak, gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. H₂O₂ damlatıldıktan sonra gaz kabarcıklarının çıkışı katalaz enziminin varlığını göstermiştir [39].

2.2.4.5. Tuzsuz ve %6 Tuzlu Buyyon'da Üreme

Tuzlu ve tuzsuz Nutrient buyyon hazırlanıp suşlardan her iki buyyona inokülasyon yapılarak 30°C'de 24 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonucu buyyonlardaki üreme durumu bulanıklığa göre değerlendirilmiştir [6].

2.2.4.6. O/F (Oksidasyon-Fermantasyon) Testi

Hazırlanan Hugh-Leifson besiyerine, son konsantrasyonu %1 olacak şekilde glikoz ilave edilmiştir. Suştan inokülasyon yapıp üzerine steril sıvı parafinden 1,5 ml konulup, 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince tüpler her gün kontrol edilerek sonuçlar bir hafta içinde besiyerinin renginin değişmesine göre değerlendirilmiştir. Besiyeri rengi sarıya dönüşen tüpler pozitif, başlangıçtaki gibi yeşil renkte kalan tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir [39].

2.2.4.7. Glikozdan Gaz Oluşturma

Durham tüpleri konularak hazırlanan besiyerine son konsantrasyonu %1 olacak şekilde glikoz ilave edilerek suşlardan inokülasyon yapılmıştır. 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu durham tüpünde gaz oluşturanlar pozitif diğerleri ise negatif olarak değerlendirilmiştir [38].

2.2.4.8. Hareketlilik Testi

Tüplerde bulunan steril hareketlilik nitrat ortamlarına izole edilen bakteriler, transfer iğnesi ile dikey olarak çizgi şeklinde inoküle edilmiştir. Tüpler 30°C’de 4-6 gün inkübasyondan sonra tüplere dikey olarak çizgi şeklinde yapılan ekimler incelenmiştir.

Besiyeri içerisinde dikey çizgi şeklinde yapılan ekimin, kenarlara doğru üreyip yayılması hareketlilik testi için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.9. Karbonhidratların Fermantasyonu

Glukoz, sukroz, mannitol, arabinoz ve salisin içeren Nutrient broth’lu tüplerin her birinde izole edilen bakteriler ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Her çeşitten bir tüp, inokülesiz kontrol olarak bırakılmıştır. Bakterilerden ekim yapılan tüpler, 30°C’de 24-48 saat inkübe edilerek, inkübasyon süresi sonunda tüpler incelenmiştir.

Mikroorganizmalar, bu karbon kaynaklarını kullanıyorsa, sonuçta ya sadece asit ya da hem asit hem gaz oluşumu gözlenmiştir. Asit oluşumu besiyerindeki indikatörün renginin kırmızıdan sarıya dönüşmesi ile, gaz oluşumu ise ters çevrili durumdaki Durham tüplerindeki gaz birikimi ile gözlenmiştir [38].

2.2.4.10. Nitratların İndirgenmesi Testi

Hareketlilik-nitrat ortamı içeren tüplerin herbirine izole edilen bakteriler ayrı ayrı ekilmiştir. Bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Bütün tüpler 30°C’de 4-6 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, tüplerde üreme olan besiyeri üzerine sülfanilik asit çözeltisinden 3 damla ve α -naftol çözeltisinden 2 damla ilave edilmiştir. Nitrit varlığında, ortamdaki nitritlerle bu iki çözelti karışımı pembemsi kırmızı renkli bir bileşik oluşturduğundan, bu renk oluşumu nitritler için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir [39].

2.2.4.11. Voges Proskauer (VP) Testi

MR-VP broth içeren tüplere, izole edilen bakteriler ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Bir tüpte kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Tüpler 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra VP testi için, farklı mikroorganizma kültürleri içeren tüpler üzerine önce 0,5 ml KOH çözeltisinden ilave edilmiştir. Çalkalanarak 5-10 dakika bekletilmiştir.

Asetil metil korbinolün oluşumuna bağlı olarak kırmızı renge doğru bir pembelik, pozitif sonuç kabul edilmiştir [38].

2.2.4.12. İndol Üretimi

Tripton broth'lu tüpler, izole edilen bakteriler ile ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Tüpler 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra tüplere birkaç damla kovaks çözeltisinden damlatılmış ve hafifçe çalkalanmıştır. Kovaks çözeltisi ile besiyerinin teması neticesinde kırmızı bir renk oluşumu, indol üretimi için pozitif bir sonuç olarak değerlendirilmiştir [38].

2.2.4.13. Esculin Hidrolizi

Formüle göre hazırlanan ortama suştan inokülasyon yapılmıştır. 30°C'de 24 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonucu üreyen kolonilerin rengi gözlenmiştir. Açık kahverengi olan besiyerinin rengini koyu kahveye çeviren suşlar pozitif, renk değiştirmeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir [41].

2.2.4.14. Ornitin Dekarboksilasyon Testi

2-5 ml Ornitin dekarboksilaz besiyeri içeren kapaklı tüplere aşılana bakteriler glukoz fermantasyonu sonucunda önce asit reaksiyonla beraber indikatörün rengini sarıya çevirmiş, daha sonra alkali dekarboksilasyon ürünlerinin oluşumu ile birlikte besiyeri rengi kırmızı-mor bir renge dönüşmeye

başlamıştır. Kontroller her gün olmak üzere 7 gün süreyle yapılmıştır. Kırmızı-mor renk görüldüğü anda deneye son verilmiştir (+ reaksiyon). 7 gün sonunda bu renk oluşmamışsa sonuç (-) olarak değerlendirilmiştir [39].

2.2.4.15. Lizin Dekarboksilasyon Testi

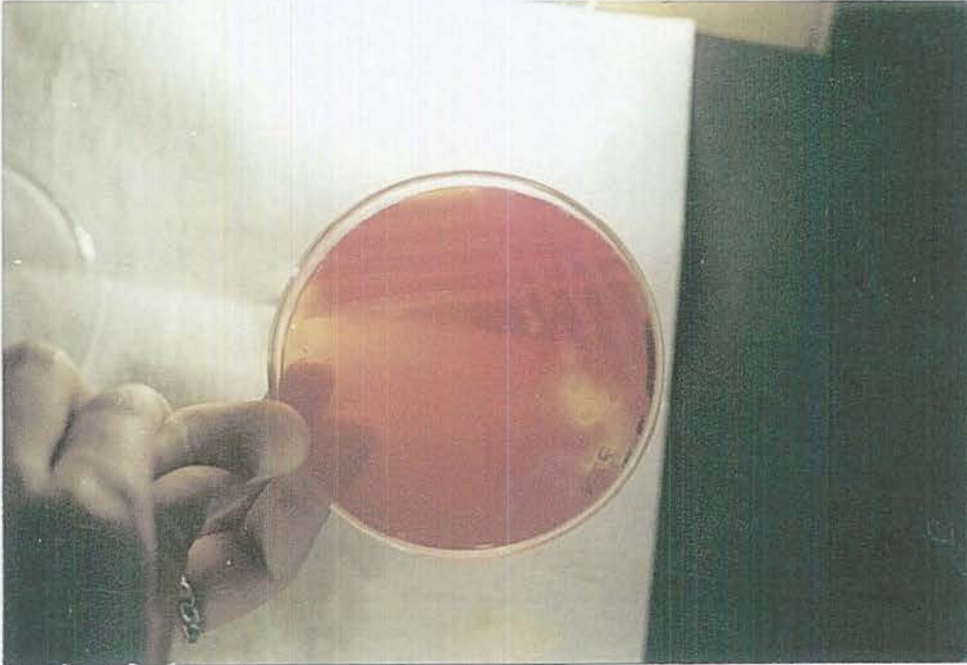
2-5 ml Lizin Dekarboksilaz besiyeri içeren kapaklı tüplere aşılana bakteriler glukoz fermantasyonu sonucunda önce asit reaksiyonla beraber indikatörün rengini sarıya çevirmiş, daha sonra alkali dekarboksilasyon ürünlerinin oluşumu ile birlikte besiyeri rengi kırmızı-mor bir renge dönüşmeye başlamıştır. Kontroller her gün olmak üzere 7 gün süreyle yapılmıştır. Kırmızı-mor renk görüldüğü anda deneye son verilmiştir (+ reaksiyon). 7 gün sonunda bu rengin oluşmamasında sonuç (-) olarak değerlendirilmiştir [39].

3. BULGULAR

3.1. *Aeromonas*'ların İzolasyonu ve Tanımlanması

Sütlüce, Yenikent, Yunuskent, Tepebaşı, Alanönü, Gökmeydan, Deliklitaş, Akarbaşı, Vişnelik, Ertuğrul Gazi ve Sazova mahalleleri ile Anadolu Üniversitesi olmak üzere toplam 12 istasyondan alınan 144 adet içme ve kullanma suyu olarak isimlendirdiğimiz 144 adet şehir şebeke suyundan bir yıl boyunca her ay alınan su örneklerinden *Aeromonas* spp. izolasyonu yapılmıştır. Ayrıca Fidanlık, Regülatör, Sarısu, Tülomsaş, Baksan, Merkez, Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü, Bent, Şeker Fabrikası önü, Devlet Hastanesi önü, Mezbaha ve Organize Sanayii bölgeleri olmak üzere Porsuk Çay'ından seçilen 12 istasyondan 12 ay boyunca alınan 144 adet su örneğinden de *Aeromonas* spp. izolasyonu yapılmıştır.

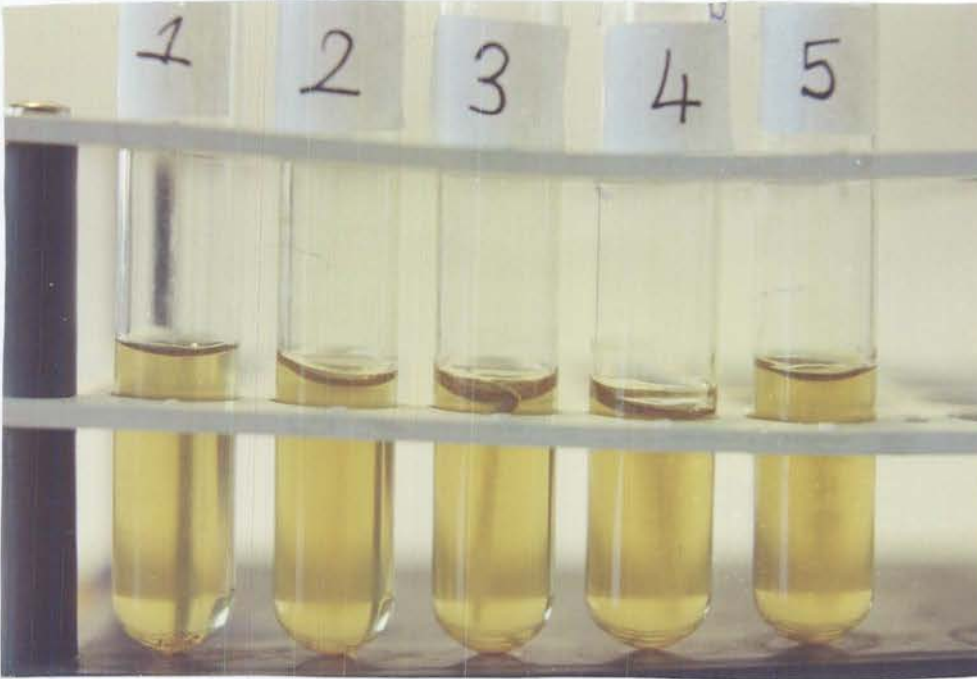
Su örneklerinden *Aeromonas* spp. izolasyonu için GSP Agar kullanılmıştır. GSP Agarda parlak sarı renkli koloniler *Aeromonas* olarak seçilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. *Aeromonas hydrophila*'nın GSP agardaki görünümü

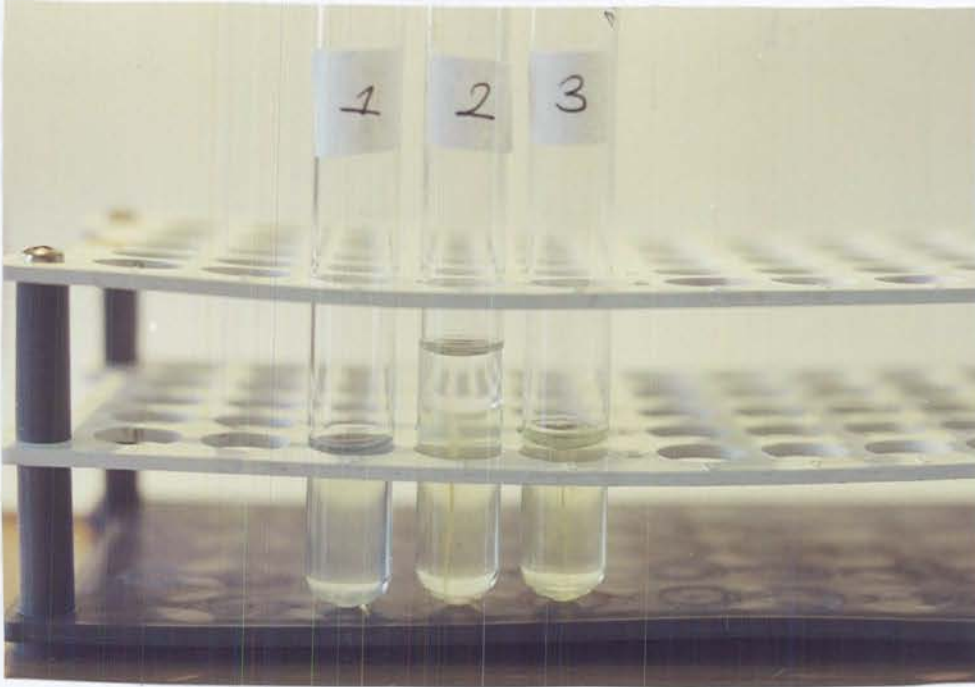
Eskişehir içme, kullanma suları ile Porsuk Çay'ından toplam 102 adet *Aeromonas* spp. izole edilmiştir. Bu izolatlardan 36'sı (%35,29) içme suyundan, 6'sı (%5,88) kullanma suyu olarak isimlendirdiğimiz şehir şebeke suyundan ve 60'ı (%58,82) Porsuk Çay'ından elde edilmiştir (Çizelge 7.1.). İzolatlara biyokimyasal testler uygulanmıştır. Gram negatif, katalaz ve oksidaz pozitif, hareketli (Şekil 3.2.), fermentatif (Şekil 3.3.), ornitin ve lizin dekarboksilasyonu negatif (Şekil 3.4.), O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) dirençli, %6 NaCl içeren Nutrient Buyyon'da üremeyen, 30°C ve 37°C'de Nutrient Buyyon'da üreyen 102 izolat *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmıştır.

Eskülini hidrolize edebilen (Şekil 3.4.), glukozdan gaz oluşturan (Şekil 3.5.), sukroz, mannitol, arabinoz ve salisini fermente edebilen (Şekil 3.5.), sefalotin'e (30µg) dirençli (Şekil 3.6.), indol ve VP testinde pozitif sonuç veren (Şekil 3.7.), ve β-hemolitik izolatlar *A. hydrophila*, eskülini hidrolize edebilen, glukozdan gaz oluşturmeyen, sukroz, mannitol, arabinoz ve salisini fermente edebilen, indol testinde pozitif, VP testinde negatif sonuç veren, sefalotin'e (30µg) dirençli ve β-hemolitik olmayan izolatlar *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. Eskülin, arabinoz ve salisini fermente edemeyen izolat bulunmadığından dolayı *A. sobria* tanımlanamamıştır.

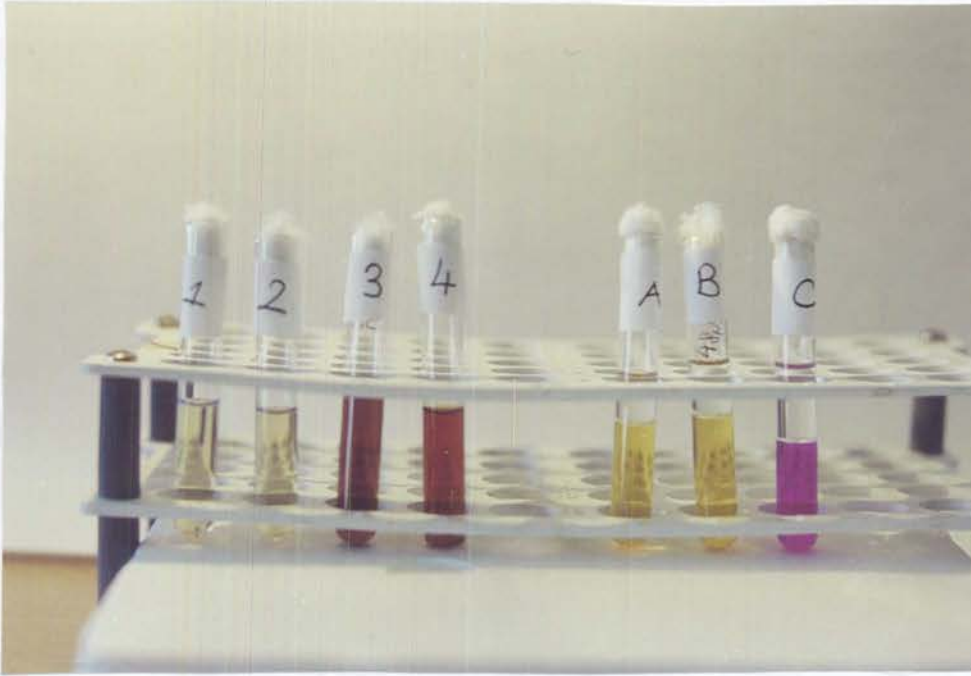


Şekil 3.2. Hareketlilik testi

(1: Kontrol 2: Negatif 3,4,5: Pozitif)



Şekil 3.3. Oksidasyon-Fermentasyon testi



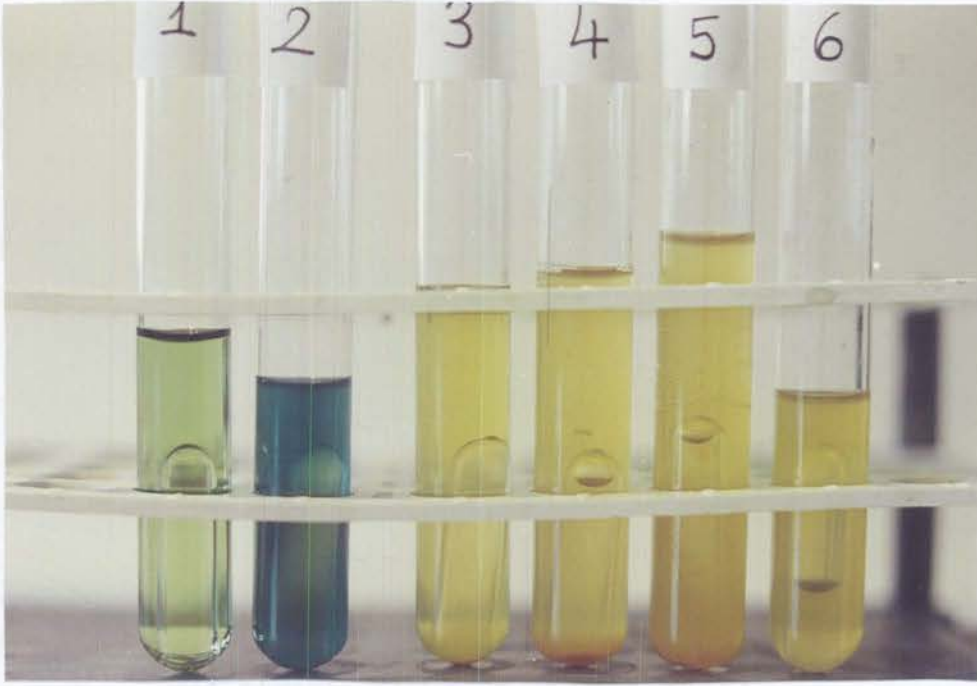
Şekil 3.4. Eskülin hidrolizasyon testi ve dekarboksilasyon testi

Eskülin hidrolizasyon testi

- 1: Kontrol
2: Negatif
3,4: Pozitif

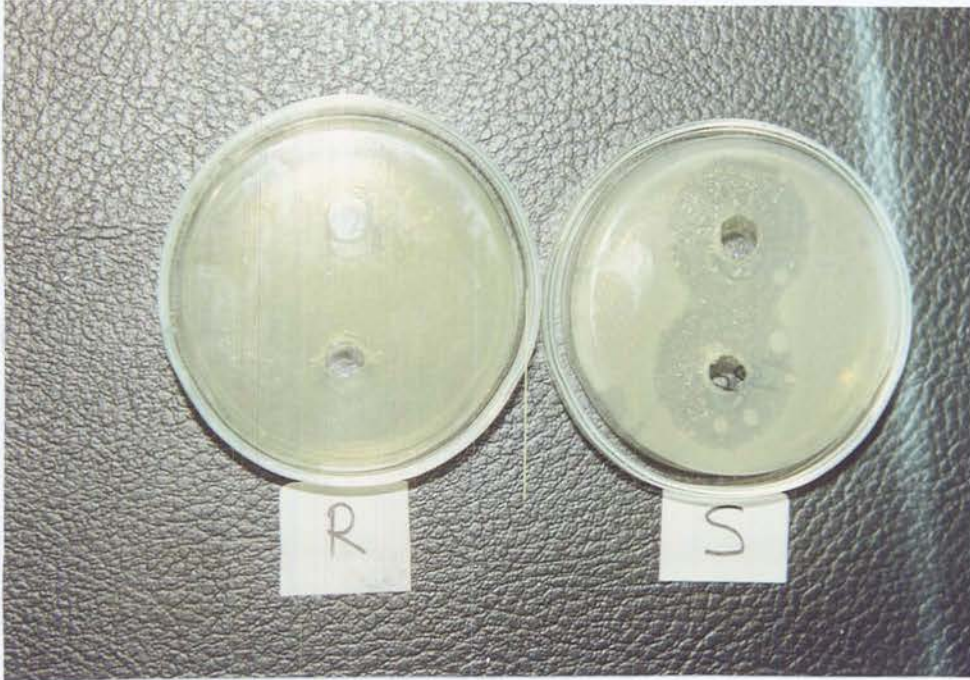
Dekarboksilasyon testi

- A: Kontrol
B: Negatif
C: Pozitif



Şekil 3.5. Karbonhidrat fermentasyon testleri

1: Kontrol 2: Negatif 3: Asit oluşumu 4, 5, 6: Asit ve gaz oluşumu



Şekil 3.6. Cephalotin'e direnç testi (R: Dirençli

S: Duyarlı)



Şekil 3.7. İndol ve Voges-Proskauer testi

İndol testi

1: Kontrol

2: Pozitif

3: Negatif

Voges-Proskauer testi

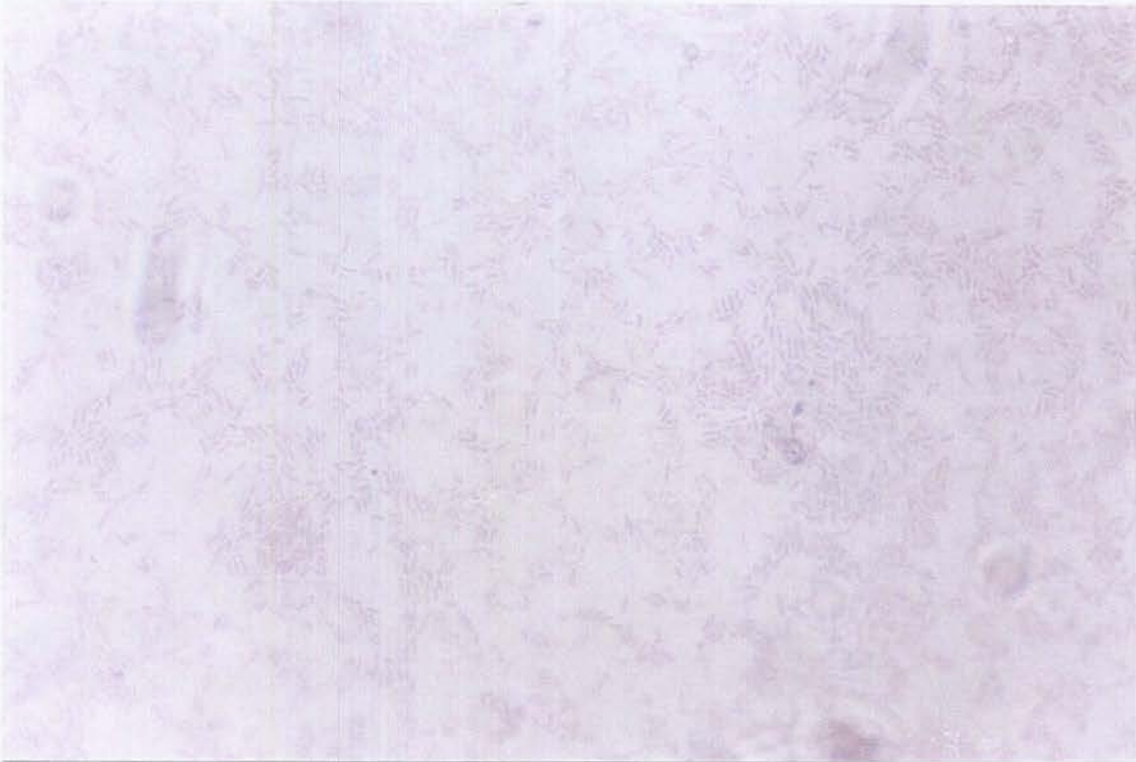
A: Kontrol

B: Pozitif

C: Negatif



Şekil 3.8. *Aeromonas hydrophila*'nın mikroskop altındaki görünüşü



Şekil 3.9. *Aeromonas caviae*'nin mikroskop altındaki görünüşü

Tanımlamada kullandığımız Çizelge 3.1’de verilen test sonuçlarına göre 1-5. gruba giren izolatlar *A. hydrophila*, 6-9. gruba giren izolatlar *A. caviae* olarak belirlenirken, 10-19. gruba giren izolatların tanımlamaları yapılamamıştır. Standart *A. hydrophila* ile *A. caviae* NRRC-207 suşlarının mikroskopik görünümleri Şekil 3.8. ve Şekil 3.9.’da gösterilmiştir.

İçme suyu örneklerinden, Yunuskent, Alanönü, Gökmeşdan ve Sütlice’den 2, Yenikent’ten 13, Akarbaşı ve Anadolu Üniversitesi’nden 4, Deliklitaş ve Vişnelik’ten 3, Ertuğrul Gazi’den 1, adet olmak üzere seçilen toplam 36 izolatın, çizelge 3.1’deki biyokimyasal testlerde gösterdikleri özelliklere göre, 8 izolat (Yunuskent, Yenikent, Gökmeşdan, Anadolu Üniversitesi, Deliklitaş ve Sütlice’den 1, Akarbaşı’ndan 2) *A. hydrophila* (%22,2) olarak, 8 izolat ise (Yunuskent, Deliklitaş, Alanönü ve Ertuğrul Gazi’den 1 Yenikent’ten 4) *A. caviae* (%22,2) olarak tanımlanmıştır. 20 izolatın (%55,55) ise tür düzeyinde tanımlanması yapılamamıştır.

Kullanma suyu örneklerinden, Yenikent’ten 3, Akarbaşı, Deliklitaş ve Sütlice’den 1 adet olmak üzere seçilen toplam 6 izolatın çizelge 6.1’deki biyokimyasal testlerde gösterdikleri özelliklere göre, 3’ü (Yunuskent, Deliklitaş ve Sütlice’den 1) *A. hydrophila* (%50), 3 izolat ise (Yenikent’ten 2, Akarbaşı’ndan 1) *A. caviae* (%50) olarak tanımlanmıştır.

Porsuk Çay’ından alınan örneklerden, Fidanlık’tan 10, Regülatör, Bent, ve Tülomsaş’tan 6, Baksan’dan 5, Mezbaha, Şeker Fabrikası önü ve Merkez’den 4, Sarısu’dan 2, Organize sanayii bölgesinden 7 adet olmak üzere seçilen toplam 60 izolatın çizelge 3.1’deki biyokimyasal testlerde gösterdikleri özelliklere göre, 8 izolat (Fidanlık, Regülatör, Baksan, Mezbaha, Şeker Fabrikası önü ve Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önünden 1,’tan 2,) *A. hydrophila* (%13,3), 22 izolat (Fidanlık’tan 5, Regülatör ve Baksan’dan 2, Mezbaha, Sarısu ve Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önünden 1, Merkez ve Bent’ten 3, Organize sanayii bölgesinden 4) *A. caviae* (%36,66) olarak tanımlanırken, 30 izolat (%50) tanımlanamamıştır.

Genel olarak bir değerlendirme yapılırsa 102 izolatın %17,64’ü *A. hydrophila*, %32,35’i *A. caviae* olarak tanımlanmış ancak %50’si tanımlanamamıştır.

Çizelge 3.1.'de 10 no'lu gruba giren 3 izolat (12. ayda Anadolu Üniversitesi ve Gökmeydan'dan alınan içme sularından izole edilenler ile 10. ayda Baksan 'dan izole edilenler) ile 11 no'lu gruba giren 35 izolat (1,4,6,7,8,9,10 ve 12. aylarda Yenikent, 9. ayda Akarbaşı, 9. ayda Deliklitaş, 11. ayda Anadolu Üniversitesi, 7. ayda Sütlice, 3,8 ve 10. aylarda Vişnelik içme sularından izole edilenler ile 1,4,7. aylarda Fidanlık, 2 ve 10. ayda Regülatör, 4,6,8 ve 9. aylarda Tülomsaş, 12. ayda Baksan, 10. ayda Mezbaha, 6 ve 8. aylarda Şeker Fabrikası önü, 6. ayda Merkez, 8. ayda Sarısu, 11. ayda Bent, 10 ve 12. aylarda Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü, 7,8 ve 10. aylarda Devlet Hastanesi önü, 2. ayda Organize sanayii bölgesinden izole edilenler) *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmış ancak glukozdan gaz oluşturmaması nedeniyle *A. hydrophila* olarak tanımlanamamışlardır.

Aeromonas spp. olarak tanımlanmış 12 nolu gruba giren 2 izolat (9. ayda Anadolu Üniversitesi içme suyundan ve 6. ayda Şeker Fabrikası önünden izole edilenler) glukozdan gaz oluşturmamaları ve sefalotine (30µg) duyarlı olmaları nedeniyle *A. hydrophila* olarak tanımlanamamışlardır.

Onüç no'lu gruba giren 3 adet izolat (8. ayda Sütlice içme suyu ve Mezbaha ile 7. ayda Regülatör'den izole edilenler) *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmış ancak glukozdan gaz oluşturmamaları nedeniyle *A. hydrophila*, VP testinde pozitif olmaları nedeniyle *A. caviae* olarak da tanımlanamamışlardır.

Ondört no'lu gruba giren 2 adet izolat (1. ayda Organize Sanayii ve 10. ayda Devlet Hastanesi önünden izole edilenler) *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmış ancak VP testinde negatif sonuç vermeleri ve sefalotine (30µg) duyarlı olmaları nedeniyle *A. hydrophila*, glukozdan gaz oluşturmaları ve sefalotine (30µg) duyarlı olmaları nedeniyle de *A. caviae* olarak tanımlanamamışlardır.

Onbeş no'lu gruba giren 1 izolat (5. ayda Organize Sanayii bölgesinden izole edilen), 17 no'lu gruba giren 1 izolat (8. ayda Fidanlık'tan izole edilen) ve 19 no'lu gruba giren 1 izolat (9. ayda Yenikent içme suyundan izole edilen) *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmış ancak indol testinde negatif sonuç vermesi nedeniyle tür düzeyinde tanımlanamamıştır.

Onaltı no'lu gruba giren 1 izolat (8. ayda Yenikent içme suyundan izole edilen) VP testinde negatif sonuç vermesi nedeniyle *A.hydrophila*, glukozdan gaz oluşturması nedeniyle de *A.caviae* olarak tanımlanamamıştır.

Onsekiz no'lu 2 izolat (7. ayda Akarbaşı ve 12 ayda Alanönü içme sularından izole edilen) glukozdan gaz oluşturmamaları nedeniyle *A.hydrophila* olarak tanımlanamamışlardır.

Çizelge 3.2'de izolatların izole edildikleri yerler, izole edildikleri aylar ve çizelge 3.1.'de gösterilen testlere göre girdikleri gruplar gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. İzole edilen bakterilerin identifikasyon test sonuçları

Bakteri No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz testi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz testi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hareketlilik testi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat indirgenme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İndol üretimi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Voges Proskauer	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
Glukoz	A+G	A+G	A+G	A+G	A+G	A	A	A	A	A	A	A	A	A+G	A+G	A+G	A	A	A
Sukroz	A+G	A+G	A+G	A+G	A	A	A+G	A	A	A+G	A	A	A	A+G	A+G	A+G	A	A	A
Mannitol	A+G	A+G	A+G	A	A	A	A+G	A+G	A	A+G	A	A	A	A+G	A+G	A	A	A+G	A
Salisin	A	A+G	A	A	A	A	A+G	A	A+G	A	A	A	A+G	A+G	A+G	A+G	A	A+G	A
Arabinoz	A	A+G	A+G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A+G	A+G	A+G	A	A	A+G	A
Oksidasyon-Fermentasyon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C'de NB'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskülin hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seflotine direnç(30µg)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
*O/129'a direnç	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

* 2-4 diamino 6-7 diisopropil pteridine

+ : Pozitif A : Asit oluşumu R : Dirençli
- : Negatif A+G : Asit ve gaz oluşumu S : Duyarlı

Çizelge 3.2. İzole edilen bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve identifikasyonda gösterdikleri özellikler

İzolat No	İzole Edilen Yer	İzole Edilen Ay	Suyun Cinsi	Girdiği Grup No
1	Yunuskent	12	İçme	<i>A. hydrophila</i>
2	Yunuskent	11	İçme	<i>A. caviae</i>
3	Yenikent	4	İçme	<i>A. hydrophila</i>
4	Yenikent	12	İçme	<i>A. caviae</i>
5	Yenikent	11	İçme	<i>A. caviae</i>
6	Yenikent	8	İçme	<i>A. caviae</i>
7	Yenikent	9	İçme	<i>A. caviae</i>
8	Yenikent	6	Kullanma	<i>A. hydrophila</i>
9	Yenikent	8	Kullanma	<i>A. caviae</i>
10	Yenikent	10	Kullanma	<i>A. caviae</i>
11	Yenikent	6	İçme	11 (tanımlanamadı)
12	Yenikent	4	İçme	11 (tanımlanamadı)
13	Yenikent	1	İçme	11 (tanımlanamadı)
14	Yenikent	12	İçme	11 (tanımlanamadı)
15	Yenikent	7	İçme	11 (tanımlanamadı)
16	Yenikent	10	İçme	11 (tanımlanamadı)
17	Yenikent	8	İçme	16 (tanımlanamadı)
18	Yenikent	9	İçme	19 (tanımlanamadı)
19	Akarbaşı	10	İçme	<i>A. hydrophila</i>
20	Akarbaşı	9	İçme	<i>A. hydrophila</i>
21	Akarbaşı	12	Kullanma	<i>A. caviae</i>
22	Akarbaşı	9	İçme	11 (tanımlanamadı)
23	Akarbaşı	7	İçme	18 (tanımlanamadı)
24	Gökmeydan	8	İçme	<i>A. hydrophila</i>
25	Gökmeydan	12	İçme	10 (tanımlanamadı)
26	Üniversite	8	İçme	<i>A. hydrophila</i>
27	Üniversite	12	İçme	10 (tanımlanamadı)
28	Üniversite	11	İçme	11 (tanımlanamadı)
29	Üniversite	9	İçme	12 (tanımlanamadı)
30	Deliklitaş	9	İçme	<i>A. hydrophila</i>
31	Deliklitaş	10	İçme	<i>A. caviae</i>
32	Deliklitaş	7	Kullanma	<i>A. hydrophila</i>
33	Deliklitaş	9	İçme	11 (tanımlanamadı)
34	Alanönü	7	İçme	<i>A. caviae</i>

Çizelge3.2. (Devam) İzole edilen bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve identifikasyonda gösterdikleri özellikler

İzolat No	İzole Edilen Yer	İzole Edilen Ay	Suyun Cinsi	Girdiği Grup No
35	Alanönü	12	İçme	18 (tanımlanamadı)
36	Ertuğrul Gazi	5	İçme	<i>A.caviae</i>
37	Sütlüce	10	Kullanma	<i>A.hydrophila</i>
38	Sütlüce	7	İçme	11 (tanımlanamadı)
39	Sütlüce	8	İçme	13 (tanımlanamadı)
40	Vişnelik	3	İçme	11 (tanımlanamadı)
41	Vişnelik	8	İçme	11 (tanımlanamadı)
42	Vişnelik	10	İçme	11 (tanımlanamadı)
43	Fidanlık	9	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
44	Fidanlık	10	Porsuk	<i>A.caviae</i>
45	Fidanlık	8	Porsuk	<i>A.caviae</i>
46	Fidanlık	11	Porsuk	<i>A.caviae</i>
47	Fidanlık	6	Porsuk	<i>A.caviae</i>
48	Fidanlık	5	Porsuk	<i>A.caviae</i>
49	Fidanlık	7	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
50	Fidanlık	4	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
51	Fidanlık	1	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
52	Fidanlık	8	Porsuk	17 (tanımlanamadı)
53	Regülatör	1	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
54	Regülatör	8	Porsuk	<i>A.caviae</i>
55	Regülatör	9	Porsuk	<i>A.caviae</i>
56	Regülatör	2	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
57	Regülatör	10	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
58	Regülatör	7	Porsuk	13 (tanımlanamadı)
59	Tülomsaş	1	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
60	Tülomsaş	10	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
61	Tülomsaş	6	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
62	Tülomsaş	4	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
63	Tülomsaş	9	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
64	Tülomsaş	8	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
65	Baksan	1	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
66	Baksan	1	Porsuk	<i>A.caviae</i>
67	Baksan	2	Porsuk	<i>A.caviae</i>
68	Baksan	10	Porsuk	10 (tanımlanamadı)

Çizelge 3.2. (Devam) İzole edilen bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve identifikasyonda gösterdikleri özellikler

İzolat No	İzole Edilen Yer	İzole Edilen Ay	Suyun Cinsi	Girdiği Grup No
69	Baksan	12	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
70	Mezbaha	11	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
71	Mezbaha	6	Porsuk	<i>A.caviae</i>
72	Mezbaha	10	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
73	Mezbaha	8	Porsuk	13 (tanımlanamadı)
74	Şeker Fabrikası	10	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
75	Şeker Fabrikası	8	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
76	Şeker Fabrikası	6	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
77	Şeker Fabrikası	6	Porsuk	12 (tanımlanamadı)
78	Merkez	1	Porsuk	<i>A.caviae</i>
79	Merkez	6	Porsuk	<i>A.caviae</i>
80	Merkez	3	Porsuk	<i>A.caviae</i>
81	Merkez	6	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
82	Sarısu	10	Porsuk	<i>A.caviae</i>
83	Sarısu	8	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
84	Bent	9	Porsuk	<i>A.caviae</i>
85	Bent	6	Porsuk	<i>A.caviae</i>
86	Bent	4	Porsuk	<i>A.caviae</i>
87	Bent	8	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
88	Anadolu Üniv.	8	Porsuk	<i>A.caviae</i>
89	Anadolu Üniv.	10	Porsuk	<i>A.hydrophila</i>
90	Anadolu Üniv	10	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
91	Anadolu Üniv	12	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
92	Devlet Hast.Önü	10	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
93	Devlet Hast.Önü	8	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
94	Devlet Hast.Önü	7	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
95	Devlet Hast.Önü	10	Porsuk	14 (tanımlanamadı)
96	Organize Sanayii	10	Porsuk	<i>A.caviae</i>
97	Organize Sanayii	4	Porsuk	<i>A.caviae</i>
98	Organize Sanayii	8	Porsuk	<i>A.caviae</i>
99	Organize Sanayii	9	Porsuk	<i>A.caviae</i>
100	Organize Sanayii	2	Porsuk	11 (tanımlanamadı)
101	Organize Sanayii	1	Porsuk	14 (tanımlanamadı)
102	Organize Sanayii	5	Porsuk	15 (tanımlanamadı)

3.2. Toplam Bakteri ve Koliform Bakteri Sayımları

Sütlüce, Yenikent, Yunuskent, Tepebaşı, Alanönü, Gökmeydan, Deliklitaş, Akarbaşı, Vişnelik, Ertuğrul Gazi ve Sazova mahalleleri ile Anadolu Üniversitesi olmak üzere toplam 12 istasyondan 12 ay boyunca alınan içme ve kullanma sularının toplam bakteri sayımları Şekil 3.10.-3.11'de verilmiştir.

Oniki ay boyunca alınan içme suyu örneklerinin Sütlüce'de %50'sinde, Yenikent ve Yunuskent'te %91,6, Tepebaşı'nda %41,6, Alanönü'nde %50, Gökmeydan ve Sazova'da %75, Deliklitaş'ta %33,3, Akarbaşı'nda %41,6, Vişnelik ve Anadolu Üniversitesi'nde %25, Ertuğrul Gazi'de %66,6'sında koliform bakteriye rastlanmıştır. Kullanma suyu örneklerinin Sütlüce'de ve Yenikent'te %33,3'ünde, Yunuskent'te, Tepebaşı'nda, Akarbaşı'nda, Ertuğrul Gazi'de ve Deliklitaş'ta %25'inde, Alanönü'nde %16,6'sında, Gökmeydan'da %50'sinde, Sazova'da ve Anadolu Üniversitesi'nde %16,6'sında, %66,6'sında koliform bakteriye rastlanırken Vişnelik mahallesinde yıl boyunca koliform bakteri saptanmamıştır.

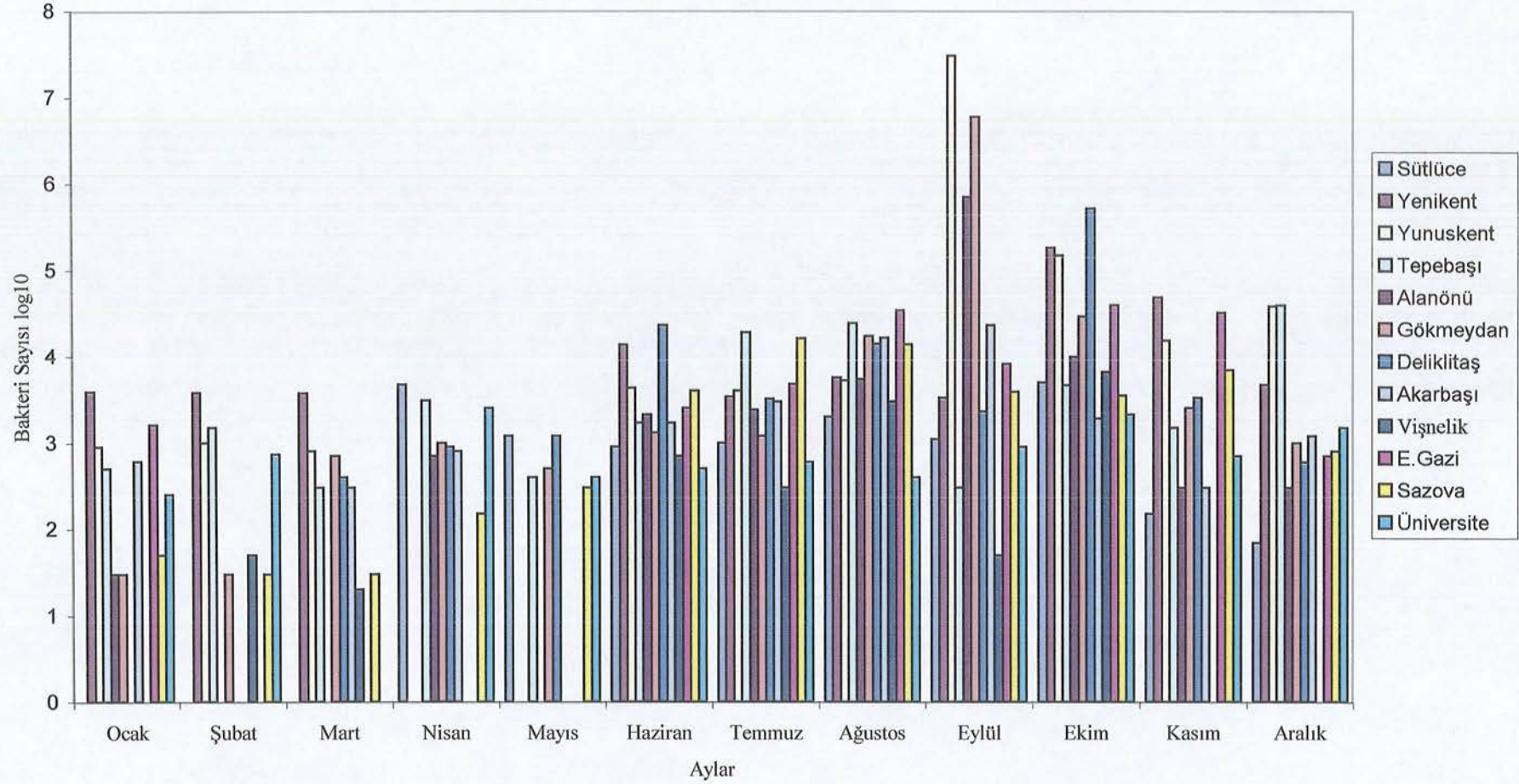
Oniki ay boyunca alınan içme suyu örneklerinin mililitrede 500'den fazla bulunma oranının Sütlüce ve Sazova'da %58,3, Yenikent ve Yunuskent'te %83,3, Tepebaşı, Ertuğrul Gazi ve Akarbaşı'nda %66,6, Alanönü'nde %50, Gökmeydan ve Deliklitaş'ta %75, Vişnelik'te %25, Anadolu Üniversitesi'nde %53,3 oranlarında olduğu saptanmıştır (Şekil 3.10.). Kullanma suyu örneklerinin Sütlüce'de %8,3, Yenikent, Deliklitaş, Akarbaşı, Sazova ve Tepebaşı'nda %25, Yunuskent ve Alanönü'nde %16,6, Gökmeydan'da %50, Ertuğrul Gazi ve Anadolu Üniversitesi'nde %8,3 olduğu saptanırken Vişnelik mahallesinde toplam bakteri bulunmamıştır (Şekil 3.11.)

Fidanlık, Regülatör, Sarısu, Tülomsaş, Baksan, Merkez, Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü, Bent, Şeker Fabrikası önü, Devlet Hastanesi önü, Mezbaşa ve Organize Sanayii bölgeleri olmak üzere Porsuk Çay'ı üzerinde belirlenen toplam 12 istasyondan 12 ay boyunca alınan su örneklerinin toplam bakteri sayımları Şekil 3.12'de gösterilmiştir.

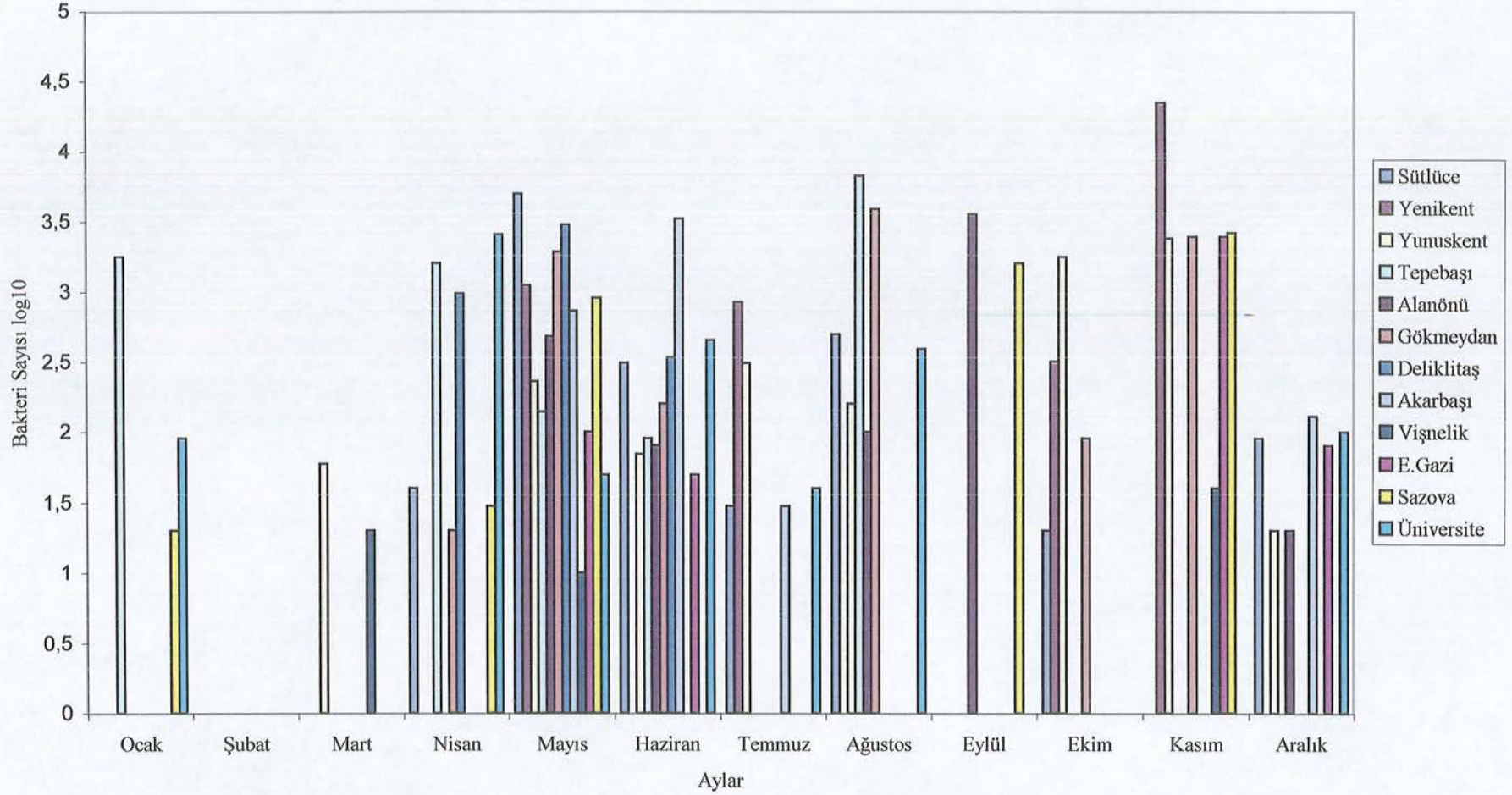
Toplam bakteri sayısı yıllık ortalama; Fidanlık'ta 87×10^5 , Regülatörde 61×10^5 , Sarısu 67×10^5 , Tülomsaş 37×10^5 , Baksan 33×10^5 , Merkez 62×10^5 ,

Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü öñü 22×10^5 , Bent 87×10^5 , Şeker Fabrikası öñü 28×10^5 , Devlet Hastanesi öñü 83×10^5 , Mezbaha 180×10^5 ve Organize Sanayii 174×10^5 olarak bulunmuştur.

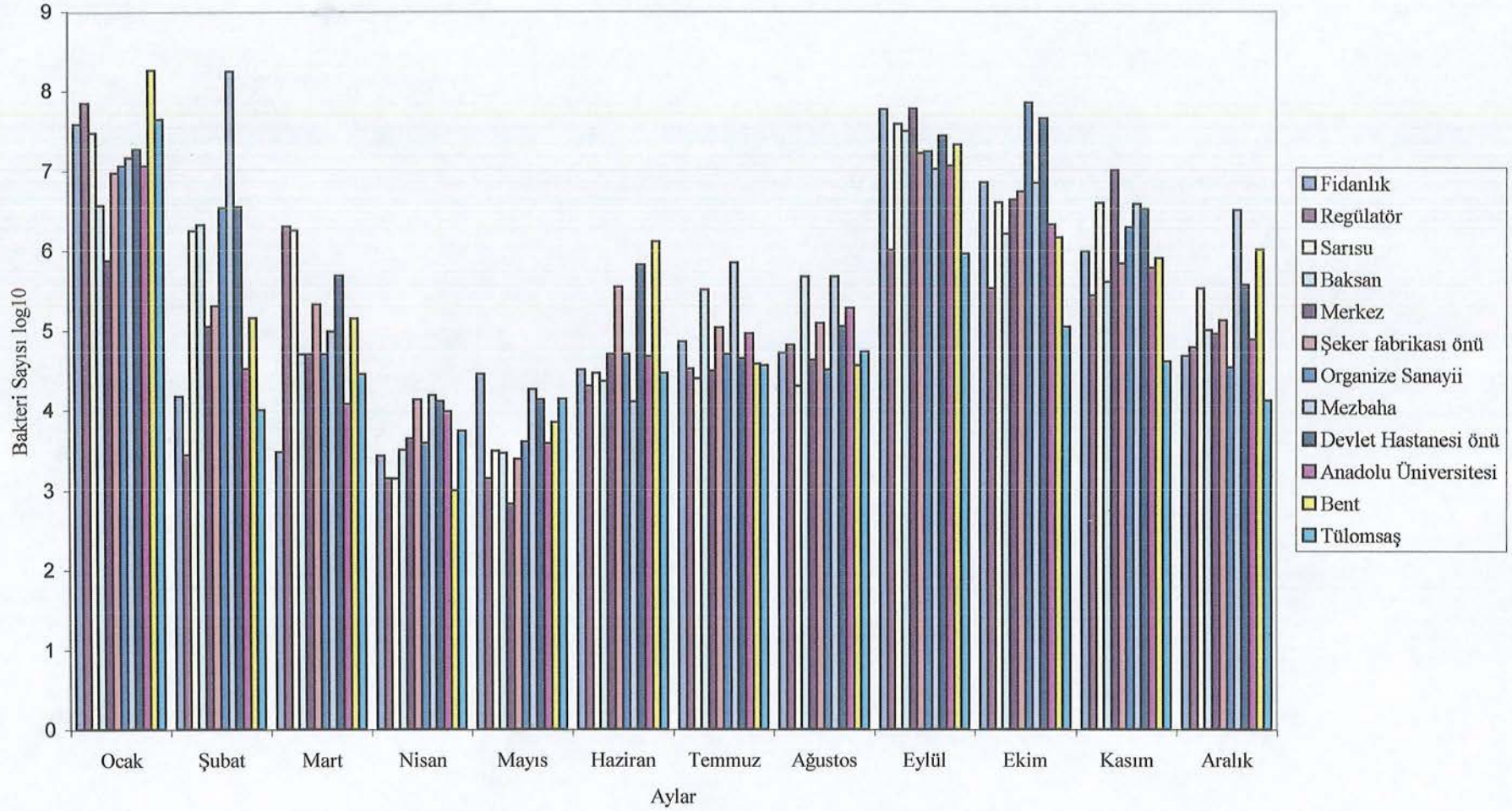
Aynı istasyonlarda en muhtemel sayı (EMS) yöntemine göre hesaplanan koliform bakteri sayıları çoğunlukla 100 mililitrede 1100'den fazla bulunmuştur.



Şekil 3. 10. İçme sularının mahalle ve aylara göre toplam bakteri sayıları



Şekil 3. 11. Kullanma sularının mahalle ve aylara göre toplam bakteri sayıları



Şekil 3. 12. Porsuk Çay'ındaki istasyonların aylara göre toplam bakteri sayıları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Aeromonas genusuna ait bakteriler içilebilir maden suları da dahil olmak üzere sucul çevrelerde sıklıkla bulunmakta, genellikle gastrointestinal enfeksiyonlar başta olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara neden olduğu, bu yüzden de çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi baskılanmış kişiler için büyük risk oluşturduğu bilinmektedir [28].

Çalışmamızda Eskişehir’de bulunan içme ve kullanma suları ile Porsuk Çay’ından su örnekleri alınmış, *Aeromonas* cinsine ait bakteriler izole edilerek tanımlamaları yapılmaya çalışılmıştır. Aynı zamanda örneklerdeki toplam bakteri ve koliform bakteri sayıları da belirlenmiştir.

Çalışmamızda incelenen toplam 144 içme suyu örneğinin 31’inde (%21,52) *Aeromonas* cinsine ait bakteriler bulunmuştur. Bu bakterilerden %22,22’si *A.hydrophila*, %22,22’si *A.caviae* olarak tanımlanmıştır. İzolatlardan %55,55’i ise yapılan biyokimyasal testlerle tanımlanmıştır.

Çalışmamızda incelenen toplam 144 kullanma suyu örneğinin 6’sında bulunan *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin (%4,16), %50’si *A.hydrophila* %50’si ise *A.caviae* olarak tanımlanmıştır.

Mascher ve ark. [42], Güney Hindistan’da ana su dağıtım istasyonlarından aldıkları su örneklerinin %44’ünde, şehir şebekesinden aldıkları örneklerin %38’inde *Aeromonas* spp. tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ki kullanma suyu örneklerinden *Aeromonas* spp. izolasyon oranı (%4,16) Mascher ve ark. saptadığı %38 oranından oldukça düşüktür. Bunun nedeninin suyun kontaminasyon durumu olabileceği gibi örneklerin alındığı kaynakların floralarının farklı olması da olabilir.

Gürsoy [6], çalışmasında Ankara’daki askeri birliklerin kullandığı kuyu suyu ve şehir şebeke sularından aldığı 60 adet örneği inceleyerek *Aeromonas* türlerini izole ve tanımlanmıştır. Sonuçta 22’si kuyu suyu 1’i şehir içme suyundan olmak üzere 23 adet *Aeromonas* suşu izole ederek 18 hareketli *Aeromonas* izolatının 10 adedini (%55,6) *A.hydrophila*, 6 adedini (%33,3) *A.sobria* ve 2 adedini de (%11,1) *A.caviae* olarak tespit etmiştir. Bu sonuçlar

çalışmamızdaki *A. hydrophila* ve *A. caviae* identifikasyon sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Biscardi ve ark. [28], İtalya'da yaptıkları çalışmada 61 adet şişe maden suyunun 4'ünden, termal su kaynaklarından alınan 23 örneğin 6'sından *A. hydrophila* izole ettiklerini bildirmişler, benzer şekilde; Salvatore ve ark. [43], İtalya'da yaptıkları çalışmada doğal maden suları ve içilebilir kuyu sularında hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığını araştırmışlardır. Altmış adet doğal maden suyu örneğinde direkt ve zenginleştirme metodları ile *Aeromonas* spp. bulunmadığını bildirmişlerdir. Toplam 20 kuyunun 5'inde 26-1609/250 ml arasında *Aeromonas* bulunduğunu, 2 kuyuda bulunan *Aeromonas* spp. ile fekal indikatörler (koliform v fekal koliform) arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Slade ve ark. [27], 35 adedi şişelenmiş maden suları, 31 adedi de belediyeye ait su kaynaklarından oluşan toplam 139 içme suyu örneğini *A. hydrophila* ve koliformlar yönünden incelemiştir. Örneklerin %43'ünde *A. hydrophila*, %11'inde koliformlar, %8'inde ise *A. hydrophila* ve koliform bulmuşlardır. *A. hydrophila* izolatlarının birçoğu farklı markalarda şişelenmiş maden sularından elde edilmiştir. Araştırmacılar, bu su örneklerinden koliform grubu bakteri saptanmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda 144 içme suyu örneğinin %4,16'sında *Aeromonas hydrophila* ve koliform, %0,69'unda *Aeromonas hydrophila*, %54,16'sında ise koliform bakteri bulunmuştur. Bu değerler Slade ve arkadaşlarının bulduğu değerlerle karşılaştırıldığında *A. hydrophila* bakımından düşük, koliformlar bakımından yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin kullanılan yöntemin ve ortam florasının farklı olduğu düşünülmektedir.

Burke ve ark. [26], Avustralya'da yapılan bir araştırmada şehir şebeke suları ile kaynak ve yüzey sularını bir yıl süreyle hem *Aeromonas* hem de *Escherichia coli* açısından incelemiştir. Dağıtım sistemindeki suyun uluslar arası standartlara uyduğu ve *E. coli* içermediği halde *Aeromonas* türlerine rastlanıldığını belirtmişlerdir. Yüzey ve kaynak sularında; *E. coli*, koliform bakteriler ve *Aeromonas* saptanırken, klorlama işleminden sonra *E. coli*'nin saptanamadığını, *Aeromonas* sayısında da sadece azalma olduğunu, ayrıca *Aeromonas* sayısının yaz aylarında maksimuma ulaştığını bildirmişlerdir. Benzer

şekilde; Özbaş ve Aytaç [10], yaptıkları çalışmalar sonucunda; Türk Standartlarının 266 sayılı İçme Suları Standardı'nda bulunmasına izin verilen en yüksek orandaki (0.5 ppm) klorun, 225×10^4 kob/ml seviyesindeki *A. hydrophila* üzerine 10 dakikalık temas süresinin etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Çalışmamızda 144 kullanma suyundan 6'sında (4,16) *Aeromonas* cinsine ait bakteriye rastlamamız bu çalışmaları ile benzerlik göstermektedir.

Uzel ve Uçar [12], İzmir'de yaptıkları bir çalışmada 14 deniz suyu, 5 kuyu suyu, 4 dere suyu örneğini *A. hydrophila* bakımından incelemişler ve çalışmaları sonucunda 4'ü deniz suyundan, 1'i dere suyundan olan izolatları *A. hydrophila* olarak tanımlamışlardır.

Çalışmamızda, Porsuk Çay'ından toplam 144 adet su örneği alınmış ve bu örneklerin 60'undan (%58,82) *Aeromonas* cinsine ait bakteriler izole edilmiştir. İzolatların 6 adedi (%13,33) *A. hydrophila*, 22 adedi (%36,66) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. İzolatların 30 adedi (%50) yapılan biyokimyasal testlerle tanımlanamamıştır.

Porsuk Çay'ının suyundan tarım alanlarının sulanmasında da yararlanılmaktadır. Sulama suyu aracılığıyla sebzelere *Aeromonas* bulaşabilir. Bu nedenle Porsuk Çay'ından *Aeromonas* izolasyonu halk sağlığı açısından bir risk oluşturabilir. Sebze ile yapılan bir çalışmada, Velazquez ve ark. [44], domateslerde *Aeromonas hydrophila*'nın yaşam süresini araştırmışlar ve çalışmaları sonucunda 50 ppm konsantrasyondaki klorun *A. hydrophila* sayısının azalmasında kullanılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Fridrih ve ark. [45], Yugoslavya'da yaptıkları çalışmada, atık suların %58,3'ünden, nehir sularının %56,2'sinden, kuyu sularının ise %22,2'sinden *Aeromonas* türlerini tespit etmişlerdir. Araujo ve ark. [29], İspanya'da fekal kirlilik dereceleri farklı üç doğal su ortamında mezofilik aeromonas'lar ile fekal koliformların sayıları arasında bir bağlantı olup olmadığını araştırmışlardır. Sulardaki fekal koliform sayılarının $9-10^7$ kob /100 ml arasında, *Aeromonas* sayılarının 10^2-10^9 kob/100 ml arasında olduğunu saptamışlardır. Fekal olarak kirlenmemiş sularda bir bağlantı bulunamazken, fekal kirlilik içeren sularda aeromonas ve fekal koliform sayıları ile biyolojik oksijen ihtiyacıyla (BOD) ölçülen organik madde konsantrasyonu arasında önemli bir bağlantı olduğunu

tespit etmişlerdir. Çalışmamızda *Aeromonas* spp. sayımı yapılması ve koliform bakteri sayımlarıyla istatistiksel bir karşılaştırmaya gidilmesi planlanmış, ancak zenginleştirme yapmadan sayım yapılamadığı için alkali peptonlu suyla zenginleştirme yapılarak kalitatif analize yönelinmiştir.

Aeromonas'ların tuzlu ve acı sularda bulunmasının sebebi olarak, bu ortamlara atık suların nehirler aracılığıyla bulaşması gösterilmiş, fekal kontaminasyon ile sularda en çok rastlanan türün *A. caviae* olduğu ve sıklıkla insan dışkılarından izole edildiği ileri sürülmüştür [24]. Porsuk Çayı'ndan alınan su örneklerinde %36,66 oranında *A. caviae* bulunması, fekal kontaminasyon olduğunu düşündürmektedir.

Kirli su, tatlı su ve deniz suyunda *A. hydrophila* ve *A. caviae*'nin eşit oranda, az kirli veya hiç kirlenmemiş sularda *A. sobria*'nın daha fazla bulunduğu bildirilmiştir [24]. Çalışmamızda içme ve kullanma suları için *A. caviae*'nin eşit oranlarda bulunması bu suların kirlilik içerdiği görüşünü desteklemektedir.

Koliform bakteri açısından Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğü'nde (Anon. (b), 1986, Anon., (c),1982), bir yıl içinde alınan su örneklerinin %95'inde koliform bakterinin bulunmaması ve örneklerin hiçbirinde fekal koliform bulunmaması gerektiği bildirilmiştir [46].

Çalışmamızda tüm su örnekleri için koliform bakteri sayımları yapılmıştır. Buna göre, oniki ay boyunca alınan içme suyu örneklerinin Sütluçe'de %50'sinde, Yenikent ve Yunuskent'te %91,6, Tepebaşı'nda %41,6, Alanönü'nde %50, Gökmeşdan ve Sazova'da %75, Deliklitaş'ta %33,3, Akarbaşı'nda %41,6, Vişnelik ve Anadolu Üniversitesi'nde %25, Ertuğrul Gazi'de %66,6'sında koliform bakteriye rastlanmıştır. Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğü'nde belirtilen standartlarla uygunluk göstermemektedir. Kullanma suyu örneklerinin Sütluçe'de ve Yenikent'te %33,3'ünde, Yunuskent'te, Tepebaşı'nda, Akarbaşı'nda, Ertuğrul Gazi'de ve Deliklitaş'ta %25'inde, Alanönü'nde %16,6'sında, Gökmeşdan'da %50'sinde, Sazova'da ve Anadolu Üniversitesi'nde %16,6'sında, %66,6'sında koliform bakteriye rastlanırken Vişnelik mahallesinde yıl boyunca koliform bakteri saptanmamıştır. Vişnelik mahallesi hariç Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğü'nde belirtilen standartlarla uygunluk göstermemektedir.

Porsuk Çay'ı üzerinde belirlenen toplam 12 istasyondan 12 ay boyunca alınan su örneklerinin toplam bakteri ve koliform bakteri sayımları yapılmıştır.

Toplam bakteri sayısı yıllık ortalama; Fidanlık'ta 87×10^5 , Regülatörde 61×10^5 , Sarısu 67×10^5 , Tülomsaş 37×10^5 , Baksan 33×10^5 , Merkez 62×10^5 , Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü 22×10^5 , Bent 87×10^5 , Şeker Fabrikası önü 28×10^5 , Devlet Hastanesi önü 83×10^5 , Mezbaha 180×10^5 ve Organize Sanayii 174×10^5 olarak bulunmuştur. Aynı istasyonlarda en muhtemel sayı (EMS) yöntemine göre hesaplanan koliform bakteri sayıları çoğunlukla 100 mililitrede 1100'den fazla bulunmuştur. Resmi Gazete'nin 28 Şubat 1990 tarih ve 20447 sayısında yayınlanan su kirlenmesi ile ilgili hükümleri, kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde belirtilen toplam koliform (EMS/100 ml) sayıları I. sınıf sular için 100, II. sınıf sular için 20000, III. sınıf sular için 100000 ve IV. sınıf sular için de 100000 ve üzeri olarak belirtilmiştir [47].

Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğüne göre 1ml içme suyunda 500'den fazla bakteri bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anon. (b), 1986, Anon., (c), 1982) [46].

Çalışmamızdaki tüm su örneklerinin toplam bakteri sayımları da yapılmıştır. 12 ay boyunca alınan içme suyu örneklerinin mililitrede 500'den fazla bulunma oranının Sütlüce ve Sazova'da %58,3, Yenikent ve Yunuskent'te %83,3, Tepebaşı, Ertuğrul Gazi ve Akarbaşı'nda %66,6, Alanönü'nde %50, Gökmeşdan ve Deliklitaş'ta %75, Vişnelik'te %25, Anadolu Üniversitesi'nde %53,3 oranlarında olduğu saptanmıştır. Yıllık ortalamaları gözönünde bulundurulduğunda Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğüne uygun olmadığı, sayımlarının yoğunluğunun fazla olduğu dönemlerin ise yaz aylarına denk geldiği görülmüştür. Kullanma suyu örneklerinin Sütlüce'de Mayıs ayı hariç (%8,3), Yenikent'te Mayıs, temmuz ve Kasım ayları hariç, Deliklitaş'ta nisan ve mayıs ayları hariç, Akarbaşı'nda Mayıs ve Haziran ayları hariç, Sazova'da Mayıs, Eylül ve Kasım ayları hariç, Tepebaşı'nda Ocak, Nisan ve ağustos ayları hariç (%25), Yunuskent'te Ekim ve Kasım ayları hariç(%16,6), Alanönü'nde Eylül ayı hariç (%16,6), Gökmeşdan'da Mayıs, Ağustos ve Kasım ayları hariç (%50), Ertuğrul Gazi'de Kasım ayı hariç (%8,3), Anadolu Üniversitesi'nde Nisan ayı

hariç (%8,3) mililitrede 500'den fazla toplam bakteri sayımı yapılmamıştır. Vişnelik mahallesinde toplam bakteri bulunmamıştır. Genel olarak en fazla sayım yapılan dönemlerin Mayıs ve Kasım aylarına rastladığı, belirtilen aylar dışında Türk Standartları ve Türk Gıda Maddeleri Tüzüğüne uygun olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlara göre Eskişehir'deki içme ve kullanma sularının hem koliform bakteri ve toplam bakteri yoğunlukları hem de *Aeromonas* türlerini bulundurmaları nedeniyle halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu düşünülmektedir.

Su dağıtım şebekelerinin kanalizasyon şebekelerine yakın olmaması, klorlama işleminin standartlara uygun yapılması, sadece indikatör mikroorganizma kabul edilen koliform grubu bakterilerin sayılarına bakarak içilebilirliklerine karar verilmemesi gerekmektedir. Bu sebeple de içme suyu standartlarımızın ve gıda tüzüğümüzün gözden geçirilerek ana su kaynaklarında *Aeromonas* standartlarının belirlenmesi ve bunun rutin su analizlerinde incelenmesi halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Bu konuda Hollanda'da ana su kaynaklarında 20 kob/ml, dağıtım sistemlerinde ise 200 kob/ml'den çok *Aeromonas* bulunmayacak şekilde yasal düzenleme yapılmıştır [6].

Çalışmamızda *Aeromonas* olarak izole edilen bakterilerin büyük bir çoğunluğunun tür düzeyinde tanımlaması yapılamamıştır. Bu nedenle *Aeromonas*'ların karakterizasyonu ile ilgili araştırmalara yoğunluk verilmesi, ayrıca insanda hastalık yapma mekanizmasının anlaşılabilmesi için virülans faktörlerinin detaylı genetik araştırmalarla ortaya çıkartılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. AKBULUT, T., PEKŞEN, Y. ve GÜVEN, K., *Su kirliliğinin sağlık açısından önemi*, Çevre Dergisi, 2: 61-66, (1986)
2. TEKİNŞEN, O.C., *Suyun Bakteriyolojik Muayenesi*, A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No: 324, A.Ü. Basımevi, Ankara, (1976)
3. AKAN, M., DİKER, K.S., KOÇAK, C., YILDIRIM, M. ve BOZKURT, Ş., *Çiğ sütlerden Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonu*, Gıda 21 (5) : 383-386, (1996)
4. MASSA, S., ALTIERI, C. ve D'ANGELA, A., *The occurrence of Aeromonas spp. in natural mineral water and well water*, International Journal of Food Microbiology, 63, 169-173, (2001)
5. MARY, P., BUCHET, G., DEFİVES, C. ve HORNEZ, J.P., *Growth and survival of clinical vs. environmental species of Aeromonas in tap water*, International Journal of Food Microbiology, 69, 191-198, (2001)
6. GÜRSOY, T.K., *Ankara'daki Askeri Birliklerin Su Kaynaklarında Aeromonas'ların Bulunuşu*. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enst., Yüksek Lisans Tezi, Ankara (1993)
7. ACAR, E., *İçtiğimiz Su Kalabak Suyu*, Eskişehir Ticaret Odası Dergisi, Sayı: 77, 77-81, (2000)
8. KARAKAŞ, N., KIVANÇ, M., GÜVEN, K. ve YILMAZ, N., *Eskişehir Damacana İçme Sularının Koliformlar Yönünden İncelenmesi ve bu Bakterilerin İçme Suyunda Yaşam Kabiliyetinin Araştırılması*, XIV. Ulusal Biyoloji Kongresi, Samsun, (7-10 Eylül 1998)

KAYNAKLAR (devam)

9. KIVANÇ, M., GÜVEN, K. ve KARAKAŞ, N., *Porsuk Çay'ındaki Nitrifikasyon-Denitrifikasyon Bakterilerinin İzolasyonu; Bu Bakteriler ile Porsuk Çay'ının Azot Kirliliğinin Giderilebilirliğinin Araştırılması*, Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenen (yayınlanmamış) Proje, **54**, (1995)
10. UZEL, A. ve UÇAR, F., *İzmir ilindeki çeşitli kaynaklardan Aeromonas hydrophila' nın İzolasyon, İdentifikasyon ve Toksik Özellikleri*. Turk J Biol. **24**, Ek Sayı, 25-32, TÜBİTAK, (2000)
11. SARİMEHMETOĞLU, B., KÜPLÜLÜ, Ö. ve KAYMAZ, Ş., *Ankara'da Tüketime sunulan Pastörize Sütlerden Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu*, Gıda **23**(2) : 141-145 , (1998)
12. KÜPLÜLÜ, Ö., SARİMEHMETOĞLU, B. ve KASIMOĞLU, A., *Sığır Kıymalarında Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu*, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (yayınlanmamış), (1998)
13. SARİMEHMETOĞLU, B. ve KÜPLÜLÜ, Ö., *Isolation and identification of motile Aeromonas species from chicken*, DTW:Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, Vol. **108**, No.11,465-467, (2001)
14. AKAN, M., YILDIRIM, M., ÖCAL, N. ve DİKER, K.S., *Köpeklerde Hareketli Aeromonas Türlerinin Sıklığı*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi. **2**. (1-2), 44-46, (1996)

KAYNAKLAR (devam)

15. POPOFF, M.: Genus III *Aeromonas*. In :KRIEG, N.R. ve HOLT, J.G. (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.1, p.545-548, Williams and Wilkins. Baltimore/London, (1984)
16. FARMER III, J.J., ARDUINO, M.J. ve HICKMAN-BRENNER, F.W., *The Genera Aeromonas and Plesiomonas*, In a. Balows et al.(Ed). *The Prokaryotes*, Vol 3, Springer-Verlag, New York, 889p., (1992)
17. JOSEPH, S.V., JANDA, M. ve CARNAHAN, A. : *Isolation, Enumeration and Identification of Aeromonas sp.*, *J. Food Safety*, 9: 23-35, (1988)
18. ROBERTS, T.A., BRAID PARKER, A.C. ve TAMPKIN, R.B., *Aeromonas*, *Micro-Organism in Foods 5*, Blackie Academic&Professional, 5-19, (1996)
19. AYTAÇ, S.A. ve ÖZBAŞ, Z.Y.: *Aeromonas'lar: Gıda Kaynaklı Yeni Patojenler*. *Türk Hij. Biol. Derg.*,49:169-180, (1992)
20. NEYTS, K., HUYS, G., UYTTENDAELE, M., SWINGS, J. ve DEBEVERE, J., *Incidence and identification of mesophilic Aeromonas spp. from retail foods*, *Letters in Applied Microbiology* 31, 359-363, (2000)
21. ÇAKIR, İ., *Aeromonas hydrophila*, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 427-432, Ankara, (2000)
22. OAKEY, H.J., GIBSON, L.F. ve GEORGE, A.M., *DNA Probes specific for Aeromonas hydrophila (HG1)*, *Journal of Applied Microbiology* 86, 187-193, (1999)

KAYNAKLAR (devam)

23. ÖZBAŞ, Z.Y. ve AYTAÇ, S.A., *Klorun Sularda Aeromonas Hydrophila ile Yersinia Enterocolitica Üzerine Etkisi ve Farklı Besiyerlerinde Geri Kazanımının İncelenmesi*, Kükem Dergisi, Cilt:16, Sayı:1 , Sayfa: 11-17, (1993)
24. BOTTARELLI, E. ve OSSISPRANDI, M.C., *Aeromonas İnfections: An Ubdate*, University of Parma, Faculty of Vererinary Medicine, Parma, (1999)
25. KIROV, S.M., ANDERSON, M.J. ve Mc MEEKIN, T.A. : *A note on Aeromonas spp. From Chickens as possible Food-borne Patogens*. J. Appl. Bacteriol. , **68**: 327-334, (1990)
26. BURKE, V., ROBINSON, K., GTACEY, M., PETERSON, D. ve PARTRIDGE, K., *Isolation of Aeromonas hydrophila from a metropolitan water supply: seasonal correlation with clinical isolates*, Applied and Environmental Microbiology, **48** (2): 361-366, (1984)
27. SLADE, P.J., FALAH, M.A. ve AL-GHADY, A.M.R., *Isolation of Aeromonas hydrophila from bottled water and domestic water supplies in Saudi Arabia*, Journal Food Prot., **49** (6): 471-476, (1986)
28. BISCARDI, D., CASTALDO, A., GUALILLO, O. ve FUSCO, R., *The occurence of cytotoxic Aeromonas hydrophila strains in Italian mineral and thermal waters*, The Science of the Total Environment, (2001)
29. ARAUJO, R.M., ARRIBAS, R.M., LUCENA, F. ve PARES, R., *Relation between Aeromonas and Faecal Coliforms in Fresh Waters*. Journal of Applied Bacteriology **67**, 213-217, (1989)

KAYNAKLAR (devam)

30. YAĞLI, K.Ö., *Aeromonas bakterileri*, A.Ü. Veteriner Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Seminer, (1991)
31. ALTWEGG, M., *Aeromonas caviae: An Enteric pathogen?*, Infections **13** (5): 228-230, (1985)
32. PALUMBO, S.A., MAXINO, F., WILLIAMS, A.C., BUCHANAN, R.L. ve THAYER, D.W., *Starch-Ampicillin Agar for the Quantitative Detection of Aeromonas hydrophila*, Applied and Environmental Microbiology, 1027-1030, (1985)
33. ABEYTA CARLOS, J.R. ve WEKELL, M.M., *Potential Sources of Aeromonas hydrophila* Journal of Food Safety **9**: 11-22, 1988
34. PALUMBO, S.A. , BENCIVENGO, M.M. , DEL CORRAL, F. ,WILLIAMS A.C. ve BUCHANAN, R.L. : *Characterization of the Aeromonas hydrophila Group Isolated from Retail Foods of Animal Origin*, Journal of Clinical Microbiology, p.854-859, (1989)
35. CHOPRA, A.K. ve HOUSTON, C.W., *Enterotoxins in Aeromonas-associated gastroenteritis*, Microbes and Infections, **1**, 1129-1137, (1999)
36. HANDFIELD, M., SIMARD, P., COUILLARD, M. ve LETARTE, R., *Aeromonas hydrophila Isolated from Food and Drinking Water: Hemagglutination, Hemolysis, and Cytotoxicity for a Human Intestinal Cell Line (HT-29)*, Applied and Environmental Microbiology, 3459-3461, (1996)

KAYNAKLAR (devam)

37. MIRANDA, C.D., CASTILLO, G., *Resistance to antibiotic and heavy metals of motile aeromonads from Chilean freshwater*, The Science of the Total Environment, **224**, 167-176, (1998)
38. TAMER, A.Ü., UÇAR, F., ÜNVER, E., KARABOZ, İ., BURSALIOĞLU, M., ve OĞULTEKİN, R., 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu, Anadolu Üniv. Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No:74, Eskişehir (1989)
39. ARDA, M., *Genel Bakteriyoloji*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: **342**, Ankara Üniversitesi Basımevi., Ankara (1978)
40. ÇAKIR, E., *Porsuk Çayı'nda Deterjanları Parçalayan Mikroorganizmaların Araştırılması*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, (1998)
41. WILKIE, F.H., *Laboratory Methods in Food Microbiology*, Part.VI.Schemes for the Identification of Microorganisms, p.394, USA (1998)
42. MASCHER, F., REINTHALER, F., SCHUMANN, G., ENAYET, U., SIXL, W. ve KLAMBAUER, B., *Microbiological and chemical analysis of Drinking water in Southern India (With special consideration of Aeromonas species)*, Geogr. Med. Suppl., **3**: 135-140, (1989)
43. MASSA, S., ALTIERI, C. ve D'ANGELA, A., *The occurrence of Aeromonas spp. in natural mineral water and well water*, International Journal of Food Microbiology, **63**, 169-173, (2001)

KAYNAKLAR (devam)

44. VELAZQUEZ, L. C., ESCUDERO, M. E., DIGENARO, M. D. ve GUZMAN, M. S., *Survival of Aeromonas hydrophila in Fresh Tomatoes (Lycopersicum esculentum Mill) Stored at Different Temperatures and Treated with Chlorine*, Journal of Food Protection, Vol.61, No.4, 414-418, (1998)
45. FRIDRIH, S. ve STOJKOVSKI, K., *Are Aeromonas species a cause of diarrheal diseases in Yugoslavia?*, Vojnasanit Pregled., vol.46(5), 334-338, (1989)
46. ANON., *Eskişehir Devlet Su İşleri 3. Bölge Müdürlüğü Su Kalitesi Gözlem Yıllığı*, Teknik Araştırma ve Kalite Kontrol Şube Müdürlüğü, Eskişehir, (1984)
47. YARAMAZ; Ö., *Çevre ve Su Kirliliği*, Ege Üniversitesi Basımevi, 86-87, Bornava-İzmir, (1992)